

Aus der Professur für Tiergesundheit und Tierschutz
der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät

**Untersuchungen und Charakterisierung der Stoffwechselsituation von Milchkühen
in der peripartalen Phase mithilfe der indirekten Kalorimetrie und der
Herzfrequenzvariabilität**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von M. Sc. Sandra Erdmann (geb. Hacke)
aus Döbbersen

Rostock, September 2018

Gutachter:

Prof. Dr. med. vet. habil. Elmar Mohr, Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Professur Tiergesundheit und Tierschutz

PD Dr. med. vet. habil. Monika Röntgen, Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Institut für Muskelbiologie und Wachstum

Prof. Dr. med. vet. habil. Wolfgang Heuwieser, Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Tierklinik für Fortpflanzung

Datum der Einreichung: 26.09.2018

Datum der Verteidigung: 03.05.2019

Meiner Familie gewidmet

GLAUBE, HOFFNUNG, LIEBE

(1.Korinther 13, 13)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis	VI
1 Einleitung	1
1.1 Hypothesen und Zielstellung.....	2
2 Tiere, Material und Methoden.....	4
2.1 Versuchstiere.....	4
2.2 Versuchsfutter	5
2.3 Versuchsdesign	7
2.3.1 Allgemeines Versuchsdesign.....	7
2.3.2 Versuchsdesign Respirationskammer.....	8
2.3.3 Versuchsdesign HRV-Daten	11
2.4 Probennahmen und Analysen.....	15
2.4.1 Futtermittelproben	15
2.4.1 Blutproben.....	16
2.4.2 Lebergewebeproben	17
2.4.3 Milchproben	18
2.5 Berechnungen.....	18
2.6 Statistische Methoden	21
2.6.1 Statistische Methoden Kapitel A	22
2.6.2 Statistische Methoden Kapitel B	22
3 Kapitel A – Vergleichende Untersuchungen der geschätzten und kalorimetrisch bestimmten Energiebilanz von Milchkühen	24
3.1 Literaturrecherche	24
3.1.1 Energiestoffwechsel	24
3.1.2 Indirekte Kalorimetrie	25
3.1.3 Energieumsatz und Energiebedarf der Milchkuh	26
3.1.4 Energiebilanz einer Milchkuh im peripartalen Zeitraum.....	27
3.2 Ergebnisse Kapitel A.....	32
3.2.1 Zootechnische Parameter.....	32
3.2.2 Blutparameter	34
3.2.3 Milchparameter	36
3.2.4 Korrelationen zwischen EBest und zootechnischen -, Blut- und Milchparametern	36
3.2.5 Vergleich der EBest und EBexp.....	37
3.3 Diskussion Kapitel A	40
3.4 Zusammenfassung Kapitel A	44

4	Kapitel B – Untersuchungen von Stoffwechselbelastungen auf das autonome Nervensystem mithilfe der Herzfrequenzvariabilität	45
4.1	Literaturrecherche	45
4.1.1	Regulation und Messung der HRV	45
4.1.2	Methodik zur Berechnung der HR- und HRV-Parameter	49
4.1.3	Diagnostische Parameter der HR / HRV und die Interpretation	52
4.1.4	Einfluss des Energiestatus auf Parameter des Blutes und ANS	56
4.1.5	Einfluss einer Stoffwechselbelastung auf Parameter der HRV	58
4.2	Ergebnisse Kapitel B	60
4.2.1	Antwort der HR und HRV Parameter auf einen zehnstündigen Futterentzug und ein nachfolgendes Refeeding	60
4.2.2	Charakterisierung der Reaktion des Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus der Kühe	61
4.2.3	Analyse der individuellen Reaktionen der Kühe bei den HRV-Parametern bei Futterentzug	63
4.2.4	Charakterisierung der phänotypischen Unterschiede zwischen den Kühen eingeteilt nach den Gruppen <LMAX und >LMAX	66
4.3	Diskussion Kapitel B	68
4.3.1	Allgemeine Anpassungsfähigkeit von Kühen bei Futterentzug	68
4.3.2	Frequenzbereichsparameter der HRV-Analyse weisen unterschiedliche Regulationen auf	70
4.3.3	LMAX als möglichen Prädiktor für eine gestörte autonome Regulation bei metabolischem Stress	72
4.4	Zusammenfassung Kapitel B	73
5	Zusammenfassende Diskussion	75
6	Schlussfolgerung	84
7	Generelle Zusammenfassung	85
8	General Summary	87
9	Literaturverzeichnis	89
9.1	Peer-Review Quellen	89
9.2	Sonstige Quellen	104

Abkürzungsverzeichnis

ADF	<i>Acid detergent fiber</i> (saure Detergensfaser)
ANS	Autonomes Nervensystem
ap	<i>Antepartum</i>
BCS	<i>Body condition score</i> (Körperkonditionsbeurteilung)
BHBA	<i>Beta-hydroxybutyric acid</i> (Beta-hydroxybuttersäure)
BHV	Bovine Herpesvirus
bpm	<i>Beats per minute</i> (Schläge pro Minute)
BVD	Bovine Virus Diarrhoe
CO ₂ ferm	CO ₂ aus ruminaler Fermentationsaktivität
DET	<i>Determinism</i> (Bestimmtheitsmaß)
EB	Energiebilanz
EBest	Energiebilanz geschätzt
EBexp	Energiebilanz kalorimetrisch bestimmt
ECM	<i>Energy Corrected Milk</i> (Energie-korrigierte Milch)
ELOS	Enzymlösliche organische Substanz
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
HF	<i>High frequency</i> (Hoher Frequenzbereich)
HLFC	<i>High liver fat content</i> (hochmobilisierende Kühe)
HRV	<i>Heart rate variability</i> (Herzfrequenzvariabilität)
HR	<i>Heart rate</i> (Herzfrequenz)
INRA	<i>Institut National de la Recherche Agronomique</i> (Nationale Forschungsinstitut für Landwirtschaft in Frankreich)
KT	Körpertemperatur
LF	<i>Low frequency</i> (niedriger Frequenzbereich)
LF/HF	Verhältnis LF zu HF
LFC	<i>Liver fat content</i> (Leberfettgehalt)
LLFC	<i>Low liver fat content</i> (niedrigmobilisierende Kühe)
LM	Lebendmasse
LM ^{0,75}	Metabolische Lebendmasse, LM in kg
LMAX	<i>Maxline</i> (längste diagonale Linie im <i>Recurrence Plot</i>)
ME	Umsetzbare Energie
MEI	Aufnahme der umsetzbaren Energie
ME _m	Erhaltungsbedarf
Ms	Millisekunden
NEB	Negative Energiebilanz
NEFA	<i>Non-esterified fatty acid(s)</i> (nichtveresterte Fettsäure(n))
NEL	Nettoenergie-Lakation
NDF	<i>Neutral detergent fiber</i> (neutrale Detergensfaser)
NRC	<i>The National Research Council</i> (Nationale Forschungsrat der Vereinigten Staaten)
nXP	Nutzbares Rohprotein
pp	<i>Postpartum</i>
REC	<i>Recurrence rate</i> (Wiederholungsrate)
RFD	Rückenfettdicke
RMSSD	<i>Square root of the mean squared differences between successive RR intervals</i> (Quadratwurzel der mittleren quadrierten Differenzen zwischen aufeinander-

Abkürzungsverzeichnis

	folgenden RR Intervallen)
RQA	<i>Recurrence quantification analysis</i> (Analyseverfahren zur Quantifizierung der Wiederholungen)
RR	RR-Intervalle; Abstand von R-Zacke zu R-Zacke
SDNN	<i>Standard deviation of RR intervals</i> (Standardabweichung der RR-Intervalle)
ShanEn	<i>Shannon entropy</i> (Shannon Entropie)
SLQ	Stehzeit-Liegezeit-Quotient
TM	Trockenmasse
TMA	Trockenmasseaufnahme
TMR	Totale Mischratio
UDP	Durchflussprotein
VLf	<i>Very low frequency</i> (sehr niedriger Frequenzbereich)
WA	Wasseraufnahme
WP	Wärmeproduktion
XA	Rohasche
XL	Rohfett
XP	Rohprotein

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der verschiedenen Rationen des Versuchs	6
Tabelle 2: Analysemethoden der Blutplasmaparameter	17
Tabelle 3: Verlauf der Milchparameter (n = 19) von der 1. bis zur 5. Woche (LS Means \pm Standardfehler)	36
Tabelle 4: Korrelation der EBest mit den zootechnischen, Blut- und Milchparametern ap (Woche – 7 bis Kalbung; n = 18) und pp (Kalbung bis 6. Woche; n = 19) (Pearson Cross-Korrelationskoeffizient und Signifikanzniveau)	37
Tabelle 5: Differenz der EBexp und EBest (GfE, INRA, NRC) von trockenstehenden (ap Woche – 4; n = 18) und laktierenden (pp Woche 2; n = 19) Kühen (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	38
Tabelle 6: Zootechnische, Stoffwechsel- und Milchparameter vor (ap Woche -4; n = 18) und nach (pp Woche +2; n = 19) der Kalbung (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	39
Tabelle 7: Korrelation zwischen EBexp und zootechnischen, metabolischen sowie Milchparametern vor (ap Woche -4; n = 18) und nach (pp Woche +2; n = 19) der Kalbung (Pearson Cross-Korrelationskoeffizient und Signifikanzniveau)	40
Tabelle 8: Referenzbereiche der Frequenzbereichsparameter	53
Tabelle 9: Parameter des Zeitbereichs, Frequenzbereichs und im nichtlinearen Bereich (modifiziert nach VON BORELL et al., 2007)	56
Tabelle 10: Berechnete Parameter der HRV unter definierten Bedingungen; P1 = ad libitum Fütterung; P2 = zehnstündiger Futterentzug; P3 = vierzehnstündiges Refeeding mit ad libitum Fütterung	61
Tabelle 11: Reaktionen auf einen zehnstündigen Futterentzug (P2) und dem vierzehnstündigen Refeeding (P3) der Parameter, die den Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus beschreiben.	62
Tabelle 12: Gruppenunterschiede zwischen <LMAX und >LMAX ap sowie pp bei Parametern zum metabolischen Status und Stresslevel	67
Tabelle 13: Gruppenunterschiede zwischen <LMAX und >LMAX ap sowie pp unter normalen Haltungsbedingungen für die Kühe	68

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsdesign integriert mit der Proben- und Datengewinnung von der Trockenstlunge bis zur Schlachtung pp	8
Abbildung 2: (A) Die äußere Hülle einer Respirationsskammer (DERNO et al., 2009); (B) Melker mit Verbindung zur Atmosphäre und Melkmaschine außerhalb der Kammer (eigenes Bildmaterial).	11
Abbildung 3: Beispiel für den zeitlichen Ablauf und das Versuchsdesign.....	12
Abbildung 4: Polar Messeinheit mit Trainingscomputer, Messband mit Elektroden und Sender (VITAL FORCE, o. J.)	13
Abbildung 5: Schematische Darstellung des geschlossenen Fixiergurts mit dem angebrachten Einlegeband (HACKE & PILZ, 2013).....	14
Abbildung 6: Schematische Aufsicht eines vergrößerten Ausschnitts der Innenseite des Fixiergurts (HACKE & PILZ, 2013).....	14
Abbildung 7: Energiebewertung (modifiziert nach KIRCHGEßNER, 2004)	25
Abbildung 8: Schematisierte Respirationsskammer für Rinder zur Messung der indirekten Kalorimetrie (modifiziert nach KIRCHGEßNER, 2004; DERNO et al., 2009)	26
Abbildung 9: Verlauf der TMA (A) und der EBest (B) ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	32
Abbildung 10: Verlauf der LM (A) und der RFD (B) ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	33
Abbildung 11: Verlauf der KT ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	34
Abbildung 12: Verlauf von NEFA (A) und BHBA (B) im Blutplasma ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	35
Abbildung 13: Verlauf von Glukose (A) und Insulin (B) im Blutplasma ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	35
Abbildung 14: Verlauf von Leptin im Blutplasma ap (n = 18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)	35
Abbildung 15: Vergleich der EBexp und EBest (GfE, NRC und INRA) von trockenstehenden (ap Woche -4; n = 18) und laktierenden (pp Woche +2; n = 19) Kühen (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau $P < 0,001$ mit *)	38
Abbildung 16: Modulation der HRV (HOTTENTROTT, 2002).....	46
Abbildung 17: Grafische Darstellung im Elektrokardiogramm von zwei Herzschlägen (THOMPSON, 2010).....	47
Abbildung 18: A = Darstellung einer theoretischen Möglichkeit der HR von 60 S/min wie in Abbildung B, wenn gleiche Abstände von R-Zacke zu R-Zacke bleiben. B = Darstellung eines EKG-Verlaufs mit unterschiedlichen Abständen von R-Zacke zu R-Zacke mit einer HR von 60 S/min (MAKIVIĆ et al., 2013).....	48
Abbildung 19: Unterschiedlicher Verlauf der HR und HRV mit steigender Belastungsintensität (modifiziert nach HOTTENTROTT, 2002)	49
Abbildung 20: Reaktion auf den Futterentzug des HRV-Parameters HF. Die Reaktion von HF auf den Futterentzug ist durch das Delta von den HF-Werten aus P1 minus den HF-Werten aus P2 = $\Delta\text{HFP2-P1}$ für jede einzelne Kuh dargestellt. Das Ansteigen des Vagus-Tonus bei fünf von zehn Tieren ($\Delta\text{HFP2-P1}$ Anstieg) wurde als HF+ definiert, die gegensätzliche Reaktion bei den anderen fünf Tieren ($\Delta\text{HFP2-P1}$ Abnahme) als HF-.....	64

Abbildung 21: Vorhersage von Gruppenunterschieden bei der autonomen Kontrolle durch den nichtlinearen HRV-Parameter LMAX. A: Für die Regressionsanalyse war $\Delta\text{HFP2-P1}$ als abhängige und LMAX als unabhängige Variable bestimmend. Durch das Bestimmtheitsmaß mit guter Vorhersagekraft ($r^2 = 0,760$) des Regressionsmodells konnte für LMAX ein Schwellenwert ($\text{SW} = 258$) ermittelt werden. Anhand dieses Schwellenwertes sind 2 Gruppen eingeteilt worden: Werte größer SW ($>\text{LMAX}$) und Werte kleiner SW ($<\text{LMAX}$). B: In der Kontrollgruppe (P1; ad libitum Fütterung) unterscheiden sich die beiden Gruppen $>\text{LMAX}$ ($n = 7$) und $<\text{LMAX}$ ($n = 3$) in den HRV-Parameter LMAX (* $P < 0,001$), HF (* $P < 0,002$) und LF (* $P < 0,002$).	65
---	----

1 Einleitung

Die Entwicklung von Kühen mit Milchleistungen > 10.000 kg in einer Laktation wird in der heutigen Zeit in den Wohlstandsländern, wie Deutschland, von den Stakeholdern zwiespältig gesehen. Auf der einen Seite bringt dieser Wandel eine hohe Milchproduktion von weniger Tieren mit sich, die sowohl zur Bedarfsabdeckung der Bevölkerung dient, als auch dem Landwirt ökonomische Vorteile bietet. Auf der anderen Seite treten in Folge der hohen Milchleistung, die mit einer stark negativen Energiebilanz (**NEB**) nach der Kalbung (GROSS et al., 2011) verbunden ist, vermehrt Probleme in der Tiergesundheit (GRUMMER, 1993; COLLARD et al., 2000) und der Reproduktionsleistung (BUTLER, 2000; LOPEZ et al., 2004; VAN KNEGSEL et al., 2007) auf. Im Jahr 2016 lag bei den eingetragenen Herdbuchkühen der Rasse Deutsche Holstein die Milchleistung bei durchschnittlich 9.433 kg (DHV, 2017). Seit 1980 (4.553 kg) hat sich die mittlere Milchleistung damit mehr als verdoppelt (ADR, 2017). Die besten Betriebe erreichten in einer Laktation (305 Tage) sogar Herdendurchschnittsleistungen von > 12.000 kg Milch (RIND UND WIR, 2017). Oftmals werden diese Tiere als Hochleistungskühe bezeichnet, jedoch wird dieser Begriff im weiteren Verlauf der Arbeit durch eine fehlende allgemeingültige Definition und der gesellschaftlich wertenden Diskussion nicht verwendet. Die enorme Leistungssteigerung resultiert sowohl aus Fortschritten in der Züchtung als auch aus der Optimierung des „Kuhkomforts“, des Managements und der Fütterungsstrategie (VEERKAMP et al., 2000; SANFTLEBEN, 2009). Jedoch bleibt das Hauptproblem des relativen Energiedefizits in der Transitphase bestehen. Durch eine zunehmende Differenz zwischen Energieabgabe über die Milch und Energieaufnahme durch das Futter wird die resultierende NEB immer mehr verstärkt und physiologische Grenzen überschritten (BORCHARDT, 2010; MARTENS, 2014). Aus der Literatur geht hervor, dass die aktuellen Schätzformeln für die Energiebilanzen (**EB**) die tatsächlichen Werte deutlich überschätzen und diese Werte noch deutlich tiefer liegen (AGNEW & YAN, 2000; AGNEW et al., 2003; GRUBER et al., 2008). „Es besteht kein Zweifel mehr, dass die NEB direkt und indirekt die Gesundheit gefährdet oder Krankheiten verursacht, die zu einem vorzeitigen Ausscheiden der Tiere führt und somit letztlich auch mit wirtschaftlichen Verlusten verbunden ist. Diese generelle Aussage trifft jedoch nicht für alle Tiere zu, da auch hier erhebliche genetische Variationen vorhanden sind, die es zu erkennen gilt“ (BRADE, 2016).

Im Einklang mit dem Zitat von BRADE (2016) hat diese Arbeit zwei Schwerpunkte. Zum einen soll die Schätzung der EB mittels kalorimetrischer Messungen bei Milchkühen validiert werden. Zugleich erfolgt ein Abgleich mit den aktuellen Fütterungsempfehlungen ausgewählter Länder (Deutschland (**GfE**), USA (**NRC**) und Frankreich (**INRA**)). Zum anderen sollen Möglichkeiten zur prädiktiven Erkennung von Tieren mit verringerter oder herausragender Adaptionfähigkeit gefunden werden. Dies ermöglicht die Ergreifung präventiver Maßnahmen und langfristig die Selektion von Tieren mit der verbesserten Anpassungsfähigkeit. Das wurde mit der objektiven, nicht invasiven Methode, die Herzfrequenzvariabilität (**HRV**), untersucht.

Das autonome Nervensystem (**ANS**) ist an der Regulation der Energiebereitstellung über Nahrungsaufnahme und Mobilisierung der Körperreserven beteiligt und steuert die Thermogenese (Energieverbrauch) (DULLOO et al., 2004; KATAOKA et al., 2014). Damit hat das ANS auch einen Einfluss auf die EB und kann verantwortlich für die unterschiedliche Anpassung des Stoffwechsels an eine NEB bei Milchkühen sein.

1.1 Hypothesen und Zielstellung

Diese Arbeit basiert auf folgenden Hypothesen:

1. Die nach geltenden Empfehlungen verschiedener Futterbewertungssysteme (GfE, NRC und INRA) kalkulierte Energiebilanz (**EBest**) liegt deutlich über der aus kalorimetrischen Daten auf Basis der Wärmeproduktion (**WP**) berechneten Energiebilanz (**EBexp**).
2. Milchkühe mit unter- bzw. überdurchschnittlicher Ausprägung der Körperfettdepots unterscheiden sich in der Fähigkeit, den Energieumsatz an eine auftretende NEB anzupassen.
3. Milchkühe unterscheiden sich im Aktivitäts-/ Reaktivitätszustand des ANS.
4. Mithilfe geeigneter HRV-Parameter sind Kühe mit unterschiedlicher Anpassungsfähigkeit an eine Stoffwechselbelastung vorzeitig erkennbar.

Entsprechend dieser Hypothesen wurden für die Dissertation im Rahmen des DFG-geförderten Projektes „FAR - Futteraufnahmeregulation“ zwei experimentelle Ansätze bearbeitet.

Kapitel A - Vergleichende Untersuchungen der geschätzten und kalorimetrisch bestimmten Energiebilanz von Milchkühen

Zielstellung ist es, die Auslenkung bestimmter, den Energiestoffwechsel beschreibenden Parameter vor und nach der Kalbung zu untersuchen. Des Weiteren werden EBexp und EBest verglichen, um Aussagen zur Genauigkeit der aktuellen Schätzformeln zur EB abzuleiten.

Kapitel B – Untersuchungen zu Auswirkungen von Stoffwechselbelastungen auf das autonome Nervensystem mithilfe der Herzfrequenzvariabilität

Zielstellung ist die Überprüfung der Hypothese, dass Indizes der HRV, die die Aktivität des ANS und die sympatho-vagale Balance reflektieren, zur Früherkennung einer Stoffwechselbelastung und möglicherweise zur prädiktiven Erkennung von Kühen mit einer gefährdeten Anpassungsfähigkeit nutzbar sind.

Diese Studie ist Teil eines gemeinschaftlichen Forschungsprojekts (DFG Projekt: KU 1956/3-1; HA 4372/6-1; SCHW 642/6-1) und wurde mit der Zustimmung vom Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt (Registration No. LALLF M-V/TSD/7221.3-2.1-021/09).

2 Tiere, Material und Methoden

In diesem Abschnitt wird das Versuchsdesign des DFG-Projektes beschrieben. In den Kapiteln A und B werden zusätzlich die versuchsspezifischen Angaben zu Tierzahlen, Material und Methoden gemacht.

2.1 Versuchstiere

Das genehmigte Tierexperiment wurde mit 20 Milchkühen der Rasse Deutsche Holstein mit jeweils vier Tieren in fünf Gruppen durchgeführt. Alle Kühe stammten aus dem Landwirtschaftsbetrieb Griepentrog KG (Steinhagen, Deutschland) und wurden in der Spätlaktation zehn Wochen vor dem voraussichtlichen Kalbetermin, zur Eingewöhnung in die Stallungen des Leibniz-Institutes für Nutztierbiologie (FBN Dummerstorf) überführt. Die Kühe wurden sieben Wochen vor der erwarteten Kalbung trocken gestellt. Um genetische Unterschiede im Fettmetabolismus auszuschließen, wurden den Kühen bereits im Herkunftsbetrieb Blutproben entnommen und auf das Vorhandensein einer spezifischen Kombination eines Markergens analysiert. Dafür ausgewählt wurde die Diacylglycerol *O*-acyltransferase1 (DGAT-1), die nachgewiesener Weise die Körper- bzw. Milchfettmenge (THALLER et al., 2003a; THALLER et al., 2003b; KÜHN et al., 2004) beeinflusst und einen Polymorphismus an Position 232 aufweist (DGAT1 K232A: Aminosäure: Lysin oder Alanin an Position 232). Für diesen Versuch wurden ausschließlich Kühe mit einem heterozygoten Anteil am Locus des Polymorphismus ausgewählt. Weiterhin waren folgende Kriterien für die Auswahl der Milchkühe festgelegt:

- Milchkühe mit einer Milchleistung >10000 Liter (305-Tageleistung)
- Eutergesunde Tiere
- 4-strichige Euter
- Kühe in der 2. bis 5. Laktation
- Hoher und niedriger *Body Condition Score* (**BCS**) und Gentest (DGAT1)
- frei von BHV und BVD (Laboruntersuchungen LALLF)
- passender Abkalbetermin für jeden Versuchsdurchgang

Da der Leberfettgehalt (**LFC**) gut geeignet ist, die Aktivität des Fettstoffwechsels beim Rind einzuschätzen (HAMMON et al., 2009), wurden die Tiere retrospektiv in zwei

Gruppen zu je 10 Tieren gemäß dem gemessenen LFC eingeteilt. Die größte Schwankungsbreite bezüglich der LFC zeigte sich am 18. Tag nach der Kalbung. Aus diesem Grund wurden die Kühe retrospektiv nach dem LFC am 18. Tag *postpartum* (**pp**) in hoch-mobilisierende (**HLFC**: LFC > 32% TS) und niedrig-mobilisierende (**LLFC**: LFC < 32% TS) Kühe eingeteilt.

2.2 Versuchsfutter

Die Kühe wurden zweimal täglich (6.30 und 15.30 Uhr) mit einer von drei verschiedenen, an den Bedarf gemäß den Bedarfsnormen der GfE (2001) und GfE (2009) in Abhängigkeit der jeweiligen physiologischen Situation angepassten, totalen Mischration (**TMR**) gefüttert (Trockensteher-, Vorbereitungs- und Frischmelkerration). Die Angaben zu der Zusammensetzung; den Inhaltsstoffen; den Energiegehalten und dem nutzbaren Rohprotein (**nXP**) der verschiedenen Rationen sind in Tabelle 1 zusammengefasst (GfE, 2001; GfE, 2009). Die Trockensteherration wurde von der siebten bis zur vierten Woche vor dem errechneten Kalbetermin gefüttert und hatte einen Energiegehalt von 5,9 MJ NEL/kg TM. Die Vorbereitungsfütterung (6,5 MJ NEL/kg TM) begann ab der dritten Woche vor der Kalbung und endete mit der Kalbung. Danach erhielten die Kühe eine energiereiche (7,1 MJ NEL/kg TM) Frischmelkerration. Die Kühe hatten unbegrenzten Zugang zu sauberem Trinkwasser und einem Salzleckstein. Zur Vorbeugung einer Gebärpause wurde den Tieren möglichst je einmal kurz vor und nach der Kalbung ein Calcium-Bolus (Bovicalc®, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Germany) peroral mittels Bolus-Eingeber verabreicht.

Tabelle 1: Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der verschiedenen Rationen des Versuchs

Komponenten	Diät		
	Trockensteher	Vorbereitung	Frühlaktation
Inhaltsstoffe, g/kg TM			
Grasanwelksilage	744	302	202
Maissilage	37	399	350
Gerstenstroh	115	54	16
Wiesenheu	92	39	26
Konzentrat ^{2;3}	1,4	124	296
Melassierte Zuckerrübenschnitzel ⁴	4,1	5,5	62
Rapsextraktionsschrot		45	32
Mineralstofffutter ^{5;6}	7,7	1,8	6,7
Saure Salze Mischung ⁷		12	
Mineralleckstein ⁸		1,0	0,7
Propylenglycol ⁹		16	8,8
Chemische Zusammensetzung			
TM, g kg	931	943	942
Rohasche	83	73	69
Rohfett, g/kg TM	40	33	30
NDF g/kg TM	354	324	298
ADF g/kg TM	202	140	140
Stärke	104	186	208
ELOS	617	691	754
Nutzbares Protein ¹ , g/kg TM	126	137	163
ME	9,7	10,8	11,8
NEL, MJ/kg TM	5,8	6,5	7,1

¹Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001)

²Kraftfutter MF 2000 (Vollkraft Mischfutterwerke GmbH, Güstrow, Germany): 33% Sojaextraktionsschrot, 20% Mais, 17% Weizenkleber, 13% Weizen, 8% Rapsextraktionsschrot, 5% Zuckerrübenschnitzel, 2% Natriumhydrogenkarbonat, 1,3% Kalziumkarbonat, 0,2% Natriumchlorid, 8,0 MJ NE_L/kg TM, 204 g nutzbares Rohprotein/kg TM.

³Kraftfutter Universal 18/3 (Vollkraft Mischfutterwerke GmbH, Güstrow, Germany): 20-40% Getreide (Triticale, Roggen, Weizen, Gerste), 25% Rapsexpeller, geringer Gehalt an Malzkeime, Weizenkleber, Weizenkleie, Haferschälkleie, Zuckerrübenschnitzel, Melasse und Glycerin, Mineralstoffe, Vitamine, 6,7 MJ NE_L/kg TM, 160 g nutzbares Rohprotein/kg TM.

⁴Trockenschnitzel (Arp, Thordsen, Rautenberg GmbH & Co KG, Sollerupmühle, Germany): Mineralstoffe, 7,3 MJ NE_L/kg TM, 153 g nutzbares Rohprotein/kg TM.

⁵Rinderstolz 9235 Trockensteher- und Vorbereitungsperiode (Salvana Tiernahrung GmbH, Sparrieshoop, Germany): 75% Rohasche, 4,5% Calcium, 6% Phosphor, 10% Natrium, 12% Magnesium, Vitamine.

⁶Rinderstolz 9522 Laktation (Salvana Tiernahrung GmbH, Sparrieshoop, Germany): 92% Rohasche, 20% Calcium, 5% Phosphor, 6 % Magnesium, 8% Natrium, Vitamine.

⁷Anionen-Mix 1141(Salvana Tiernahrung GmbH, Sparrieshoop, Germany): 14% Calcium, 12,5% Schwefel, 12% Chlor, 10 % Magnesium, 2% Phosphor, Vitamine.

⁸esco SOLSEL® Mineralleckstein mit Kupfer (esco - european salt company GmbH & Co. KG, Hannover, Germany): 37% Natrium, 1,6% Calcium, 0,6% Magnesium.

⁹Propylenglykol USP (Dr. Pieper Technologie- und Produktentwicklung GmbH, Wuthenow, Germany)

2.3 Versuchsdesign

Die Untersuchungen wurden im Zeitraum Oktober 2009 bis April 2012 in den Experimentalanlagen und im Tiertechnikum des FBN durchgeführt. In den Stallungen wurden die Tiere in Anbindehaltung auf Stroh und im Tiertechnikum in Untersuchungsständen bzw. in der Respirationskammer, die mit Gummimatten ausgelegt waren, gehalten. Zwei Wochen vor der kalkulierten Abkalbung wurden die Kühe in einen separaten Abkalbestall mit Tiefstreuboxen verbracht. In den Stallungen wurden die laktierenden Kühe zweimal täglich um 3.30 Uhr und 15.00 Uhr mit einer Rohrmelkanlage bzw. Eimermelkanlage (DeLaval) gemolken. Im Tiertechnikum erfolgte das Melken mit einer fahrbaren Melkmaschine (Typ IZ 200T, Impulsa GmbH, Elsterwerda). Das Versuchsdesign ist zusammenfassend in Abbildung 1 dargestellt.

2.3.1 Allgemeines Versuchsdesign

Die experimentellen Arbeiten begannen nach einer zweiwöchigen Eingewöhnungsphase in der Experimentalanlage Rind des FBN mit der Trockenstellung der Kühe (Woche 7 vor der geplanten Abkalbung). Die Futteraufnahme, die Milchleistung, die Rektaltemperatur sowie der klinische Gesundheitszustand der Tiere wurden täglich erfasst und dokumentiert. Einmal wöchentlich wurden zootechnische Parameter (Körpergewicht, Brust- und Bauchumfang, BCS, Rückenfettdicke (**RFD**) und Durchmesser des *M. longissimus dorsi* mittels Ultraschallmessung) bestimmt. Ebenfalls wöchentlich, im peripartalen Zeitraum (eine Woche vor und nach der Kalbung) zweimal wöchentlich, wurde den Kühen vor der Fütterung um 8.00 Uhr Blut aus der *Vena jugularis externa* mittels Vacutainer® System entnommen. Die Entnahme von Leber- und Muskelbiopsien wurden in der fünften und dritten Woche *ante partum* (**ap**) und in der ersten, dritten und fünften Woche *post partum* (**pp**) jeweils morgens vor der Fütterung durchgeführt. Der Energiestoffwechsel der Kühe wurde in der vierten Woche *ap* und in der zweiten Woche *pp* mittels indirekter Kalorimetrie in Respirationskammern des FBN gemessen. Die Schlachtung der Versuchstiere fand in der sechsten Woche *pp* um 7.30 Uhr im Schlachthof des FBN statt. Die Tiere wurden zwischen 7.00 und 7.15 Uhr in das Schlachthaus transportiert und nach der Ankunft gewogen, anschließend tierschutzgerecht mittels Bolzenschuss betäubt und unverzüglich durch den Entblutungsschnitt mit schwallartigem Blutentzug getötet. Die Organe (Euter, Milz, Herz, Nieren, Leber, Pankreas, Darm) und das Fettgewebe (omentrales Fettgewebe, subkutanes Fettgewebe, Nierenfett, Darmfett) wurden

sofort gewogen. Die Organproben und das Fettgewebe wurden in einem separaten Raum auf Eis zerkleinert, in Stickstoff schockgefroren und anschließend bis zur Untersuchung bei -80 Grad Celsius gelagert. Details zu den spezifischen Ergebnissen der Muskelbiopsien und Schlachtungen wurden von SCHÄFF et al. (2013) und BÖRNER et al. (2013b) veröffentlicht und sind nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeit.

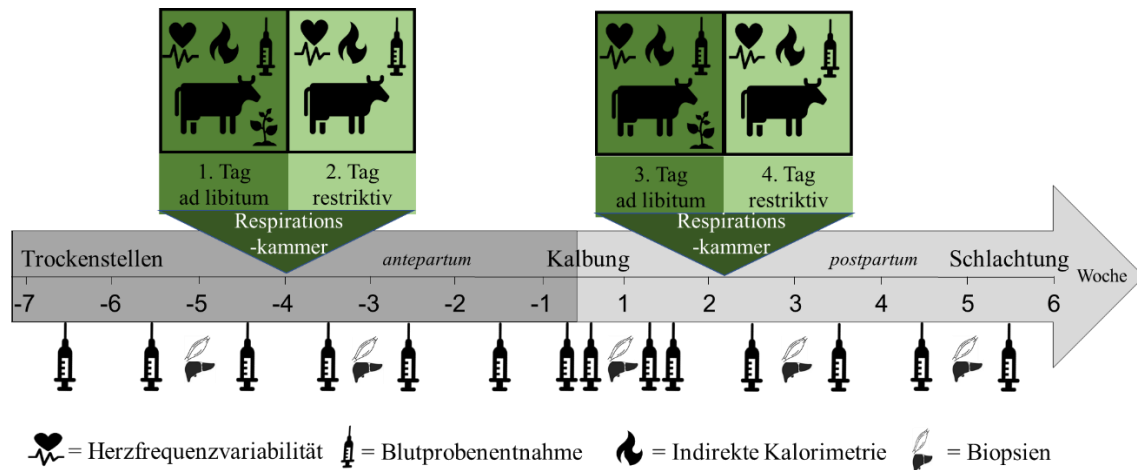


Abbildung 1: Versuchsdesign integriert mit der Proben- und Datengewinnung von der Trockenstellung ap bis zur Schlachtung pp

2.3.2 Versuchsdesign Respirationsskammer

Adaption der Tiere an die Respirationsskammern: Während der Wochen -7 bis -5 (ap) wurden die Kühe schrittweise an die Respirationsskammern adaptiert. Dazu wurden die Kühe am ersten Tag für eine Stunde in der Respirationsskammer verbracht. Diese Zeit wurde pro Tag um eine weitere Stunde gesteigert. Die Anzeichen für eine erfolgreiche Gewöhnung wurden durch die vollständige Erfüllung folgender Parameter definiert: Fressen, Trinken, Wiederkauen, Ablegen und physiologische Körpertemperatur (**KT**) ohne Unterschiede zur Stallhaltung. Keine Kuh benötigte mehr als vier Tage für die Eingewöhnung.

Aufbau und Funktionsweise der Respirationsskammer: Der Gaswechsel wurde in klimatisierten Respirationsskammern (16 m³ Kammervolumen, 18 °C Temperatur und 60 % Luftfeuchte) mit einer kontrollierten offenen Luftzirkulation, kontinuierlich in 6-Minuten-Intervallen gemessen (DERNO et al., 2009). Die vier Respirationsskammern (4 x 2 x 2 m, L*B*H) sind paarweise angeordnet und ermöglichen Sicht- und Hörkontakt zwischen den Tieren sowie ein normales Steh- und Liegeverhalten. Die Steh- und

Liegezeiten der Tiere wurden mit einem fotoelektrischen Schalter (SA1E, idec Elektrotechnik GmbH, Hamburg, Germany) ermittelt. Die Bewegungen bzw. die physikalische Aktivität der Tiere wurde durch einen modifizierten Infrarotbewegungsmelder (IS 120, STEINEL, Herzebrock-Klarholz, Germany) in Impulse umgewandelt und aufgezeichnet. Das Verhalten der Tiere wurde zu jeder Zeit mit Hilfe von Infrarotreflektoren und Videokameras aufgezeichnet und konnte durch Monitore an den Kammern in Echtzeit und am aufzeichnenden Computer beobachtet werden. Die individuelle Futter- und Wasseraufnahme (WA) wurde ständig von allen Kühen automatisch elektronisch registriert. Dafür wurde eine eingebaute Waage (Paari® AWE 460, PAARI Waage und Anlagenbau GmbH und Co. KG, Erfurt) unter dem Futterbehälter und ein elektromechanischer Wasserschalter (Elster Messtechnik, Lampertheim, Germany) verwendet. Jede Kammer ist mit zwei luftdicht verschließbaren Zugangstüren und luftdichten Fenstern ausgestattet. Der Kot und Harn wurde über ein Schachtsystem unterhalb der Kammern aufgefangen. Um eine Gefährdung der Tiere im luftdichten Kammerinneren bei Störungen auszuschließen, ist ein Alarmsystem integriert, dass bei Über- oder Unterschreitung der Grenzwerte für Luftdruck, Temperatur, Luftfeuchtigkeit oder Frischluftzufuhr die Mitarbeiter informiert. Der Zugang zu jeder Respirationsskammer erfolgt über eine vorgelagerte Schleuse, in der dieselbe Gaskonzentration, wie in der Messkammer selbst, herrscht. Dadurch wurde sichergestellt, dass durch das Betreten der Kammer die Messergebnisse nicht verfälscht werden. Damit bei einem längeren Aufenthalt einer Person während einer Messung in der Kammer (z.B. Melken) diese das Messergebnis nicht verfälscht, trug sie eine Gasmaske mit einer Schlauchverbindung zum Außenbereich. Die Blutproben wurden ohne direkten Tierkontakt von außerhalb der Kammern in der Schleuse mittels eines permanenten Venenkatheters gewonnen. Die Frischluftzufuhr der Kammern erfolgt über Pumpen. Die Menge und die Zusammensetzung der Abluft der Tiere wurde alle sechs Minuten durch spezielle Analysatoren bestimmt. Der CO₂- und CH₄-Gehalt wurde durch Infrarotabsorption (UNOR 610, Maihak AG, Hamburg) und die O₂-Konzentration durch paramagnetische Analysatoren (OXYGOR 610, Maihak AG, Hamburg) analysiert. Die gemessenen Werte (O₂-, CO₂-, CH₄-Konzentration der Luft, Futter- und WA-Aufnahme, Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Luftdruck, Stehzeiten, die Steh- und Liegeposition, Aktivitätsimpulse) wurden in ein Datenerfassungssystem (Simatic, Siemens, München, Germany) übertragen und mit einer speziellen Software (WinCC, Version 5.1, SP 2, Siemens, München, Germany) gesammelt. Ein auf DELPHI (Delphi 2007, San Francisco, CA, USA) basierendes Programm (Copyright H.

Scholze, FBN, Dummerstorf) vereinigte alle Messdaten pro Tier in einer EXCEL-Tabelle (Microsoft) und berechnete daraus alle sechs Minuten die WP, den respiratorischen Quotienten, die Kohlenhydratoxidation sowie die Fettoxidation (DERNO et al., 2013).

Ablauf der Untersuchungstage in der Respirationskammer: Die Kühe wurden für die Versuchsmessungen am Vortag, etwa 15 Stunden vor Messstart in die Respirationskammer (Abbildung 2) eingestallt, um eine fehlerfreie Einstellung der Luftparameter zu gewährleisten. Den Kühen wurde im Vorfeld ein Dauerkatheter (Venovenverweilkatheter Certofix®Mono S 430, 14G (breite), Braun, Melsungen) in die *Vena jugularis externa* gelegt und mit einer Schlauchverlängerung ausgestattet. Ebenso wurde den Kühen die Fixiergurte für die HRV Messung angelegt. Erst nachdem die Sollwerte in der Respiration erreicht wurden (Temperatur, Luftfeuchte, O₂, CO₂, u.a.), wurde am nächsten Morgen (6:30 h) die kontinuierliche Messung gestartet. Die Einteilung der unterschiedlichen Versuchsperioden (P1–P3) erfolgte zum einen anhand der Fütterung. Nach einer 24 Stunden *ad libitum* Fütterung (Periode 1; P1) wurde am zweiten Untersuchungstag ab 6:30 Uhr für 10 Stunden (Periode 2; P2) das Futter entzogen, um die Kühe bei einer definierten Belastung des Energiestoffwechsels zu untersuchen. Die Kühe erhielten um 16:30 Uhr wieder Futter (gesamte Tagesration) und der Zeitraum bis zum nächsten Morgen (6:30) wird als *Refeeding* (Periode 3; P3) bezeichnet. Des Weiteren wurden für die Auswertungen auch jeweils die gesamten Untersuchungstage (24 h) vor und nach der Kalbung ohne und mit Futterentzug betrachtet (Tag 1 = ap / *ad libitum*; Tag 2 = ap / 10 h Futterentzug; Tag 3 = pp / *ad libitum*; Tag 4 = pp / 10 h Futterentzug). Die Kühe wurden unmittelbar vor und nach der Ein- bzw. Ausstallung auf einer Tierkörperwaage gewogen. Die Fütterung mit einer TMR (Tabelle 1), grobe Reinigung des Liegebereichs und Messung der KT wurde morgens 7.00 Uhr und nachmittags um 15 Uhr durchgeführt. Die Kühe hatten zu jeder Zeit freien Zugang zum Trinkwasser. Die Kühe wurden in der Respirationskammer morgens um 6.30 Uhr und nachmittags um 16:30 Uhr gemolken. Für die genaue Information über den Energiestatus der Tiere in der Respirationskammer wurden mithilfe der WP (Formel 10) und der Aufnahme an umsetzbarer Energieeinnahme (**MEI**, Formel 5) die EBexp (Formel 11 Formel 12) für alle Tiere in jeder Phase P1, P2 und P3 berechnet. Ebenso wurde die ruminale Fermentationsaktivität (**CO₂ferm**) gemessen (Formel 19). Die erhobenen Daten (O₂-Verbrauch, CO₂- und CH₄-Produktion, Futteraufnahme und körperliche Aktivität einschließlich Steh-Liege-

Verhalten) innerhalb der Respirationsskammerversuche wurden vor und nach der Kalbung für die Auswertungen verwendet. Die Blutproben wurden ohne direkten Tierkontakt von außerhalb der Kammer gewonnen. Dazu wurde das Blut über eine Schlauchverlängerung in Fe-Fluorid-Monovetten (Sarstedt, Germany) gezogen, die anschließend bis zur weiteren Aufbereitung auf Eis gelagert wurden. Am ersten Tag der Messung in der Respirationsskammer (*ad libitum* Fütterung/ Tag 1) wurden alle 60 Minuten von 9:00 bis 14:00 Uhr (insgesamt sechs Blutproben) und am zweiten Tag (Futterentzug für 10 Stunden) alle 60 Minuten von 6:30 bis 16:30 Uhr insgesamt elf Blutproben genommen. Nach der 14-stündigen *Refeeding*-Phase ist eine finale Blutprobe am Folgetag um 6:30 Uhr gezogen worden.

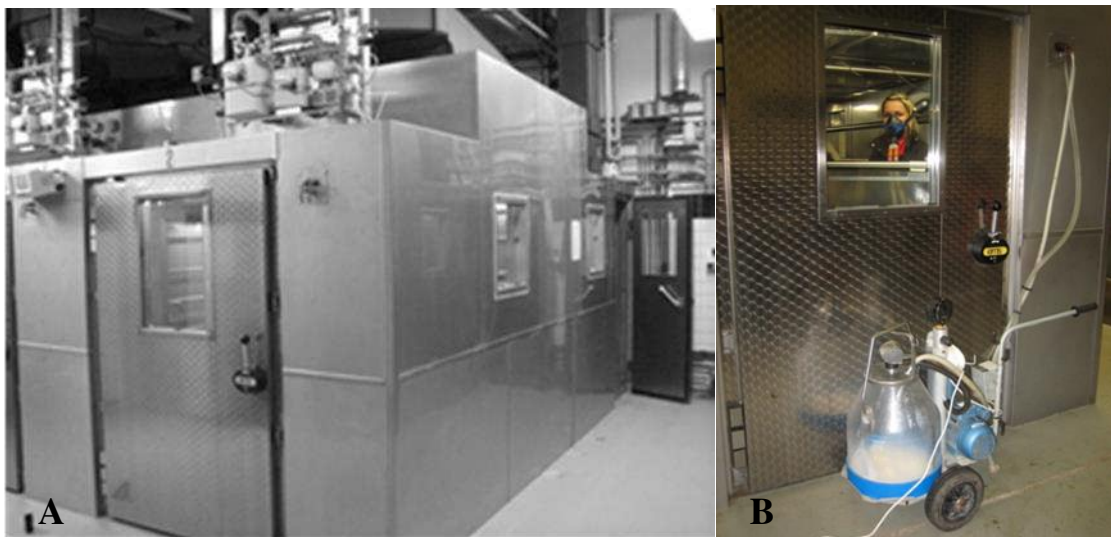


Abbildung 2: (A) Die äußere Hülle einer Respirationsskammer (DERNO et al., 2009); (B) Melker mit Verbindung zur Atmosphäre und Melkmaschine außerhalb der Kammer (eigenes Bildmaterial).

2.3.3 Versuchsdesign HRV-Daten

Ablauf zur Messung der HRV-Daten: Zeitgleich mit der Messung der Respirationsskammerdaten wurden kontinuierlich für 48 Stunden, beginnend mit Messstart um 6:30 Uhr, die Herzfrequenz (**HR**) und die RR-Intervalle (**RR**) zwischen den aufeinanderfolgenden R-Peaks gemessen und aufgezeichnet. Deshalb wurden die Kühe im Vorfeld nicht nur an die Respirationsskammer adaptiert, sondern auch die diagnostische Messung der HRV. Dazu wurde den Tieren der Fixiergurt um den Thorax hinter den Vorderbeinen angelegt. Anschließend wurden die Tiere beobachtet. Die Adaption wurde als erfolgreich eingestuft, wenn die Tiere sich nicht am Gurt gescheuert, geleckert oder

danach geschaut haben, sondern ihr Verhalten mit angelegtem Gurt keine Unterschiede zu dem ohne Gurt zeigten. Die Tiere zeigten eine schnelle Gewöhnung an den Fixiergurt; bereits nach der ersten Adaptionsphase wurden bei keinem Rind Auffälligkeiten beobachtet.

Für die Auswertung der HRV-Analyse wurden Zeitenräume mit bestimmten definierten Bedingungen ausgewählt: Die WP musste stabil sein. Um Effekte auf die HRV durch körperliche Aktivität zu minimieren, wurden zudem nur Datensätze von liegenden Tieren ausgewählt. Die Auswahl der Datensätze in den verschiedenen Perioden erfolgte in P1 bei einem stabilen WP_{Maximum} -Wert, in P2 bei einem WP_{Minimum} -Wert am Ende der Periode und in P3 durch einen WP_{Maximum} -Wert, der sich durch das *Refeeding* schnell einstellte. In die Datenanalyse einbezogen wurden die Werte, wenn die Tiere konstante WP-Werte und einen ausreichenden Zeitraum im Liegen aufwiesen. Es wurden für die Auswertung der Fütterungsperioden P1-P3 die relevanten Daten in den einzelnen Zeitabschnitten, die 10 bis 20 Minuten dauerten, anhand der WP ausgewählt, korrigiert, transformiert und analysiert (Abbildung 3).

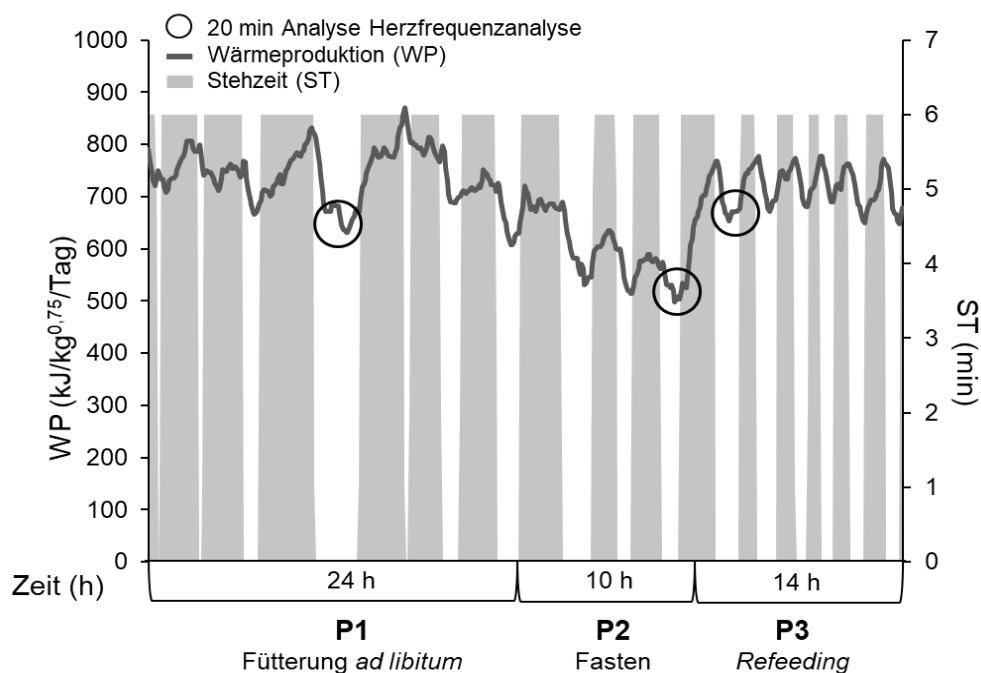


Abbildung 3: Beispiel für den zeitlichen Ablauf und das Versuchsdesign

Messgeräte und Bedingungen zur Erfassung der HRV-Daten: Die Daten der HR und der RR-Intervalle wurden mit einem nichtinvasiven Messgerät (Polar Electro Oy, Finnland)

erfasst (Abbildung 4). Dieses Messgerät besteht aus einem Trainingscomputer (Polar Equine RS800CX, Polar Electro Oy, Finnland) und einem Brustgurt, der mit einem fixierbaren Sender (Polar Equine Wearlink® W.I.N.D. codiert, Polar Electro Oy, Finnland) und zwei integrierten Elektroden (Polar Electro Oy, Finnland) ausgestattet ist.



Abbildung 4: Polar Messeinheit mit Trainingscomputer, Messband mit Elektroden und Sender (VITAL FORCE, o. J.)

Die Messeinheit ist für den Pferdesport entwickelt worden und konnte in diesem Versuch zur Messung bei Rindern validiert werden. Um eine stabile Messung der HR und RR zu erreichen, wurde für die Fixierung des Messgerätes ein eigener Gurt entwickelt und angefertigt (HACKE & PILZ, 2013). Dieser ermöglicht eine geschützte, für das Tier bequeme und nicht-störende und an die Messerfordernisse genau angepasste Anbringung am Tier (Abbildung 5 und 6). Die vorliegende Erfindung beschreibt ein System, welches zur Befestigung der Messeinheit „Polar Equine RS800 CX“ an Großtieren dient. Es besteht aus einem elastischen Material, welches die Bewegungsfreiheit und die Atmung nicht beeinträchtigt. Das System ist an die individuelle Brustkorbgröße des Tieres anpassbar. Weiterhin beinhaltet es Ledertaschen, in denen die Elektroden, die Sendeeinrichtung und ggf. ein Empfänger vor Umwelteinflüssen geschützt sind. Die Taschen sind mittels Klettverschlüssen variabel am Fixiergurt zu befestigen. Die Funktionsfähigkeit und Passgenauigkeit des Systems wurde für verschiedene Messzeiträume bereits erprobt und validiert. Das hier entwickelte System ist auch für Außeneinsätze geeignet. Um den Kontakt der Elektroden mit der Haut zu optimieren, wurde den Kühen vor der Messung auf der linken Körperseite das Fell auf zwei 10 x 15 cm großen Flächen, kaudal von der Schulter gelegen, abrasiert. Diese Flächen befanden sich etwa 10 cm bzw. circa 80 cm ventral vom Widerrist. Vor der Positionierung am Tier wurden die Elektroden sowie die rasierten Flächen zusätzlich mit Wasser befeuchtet.

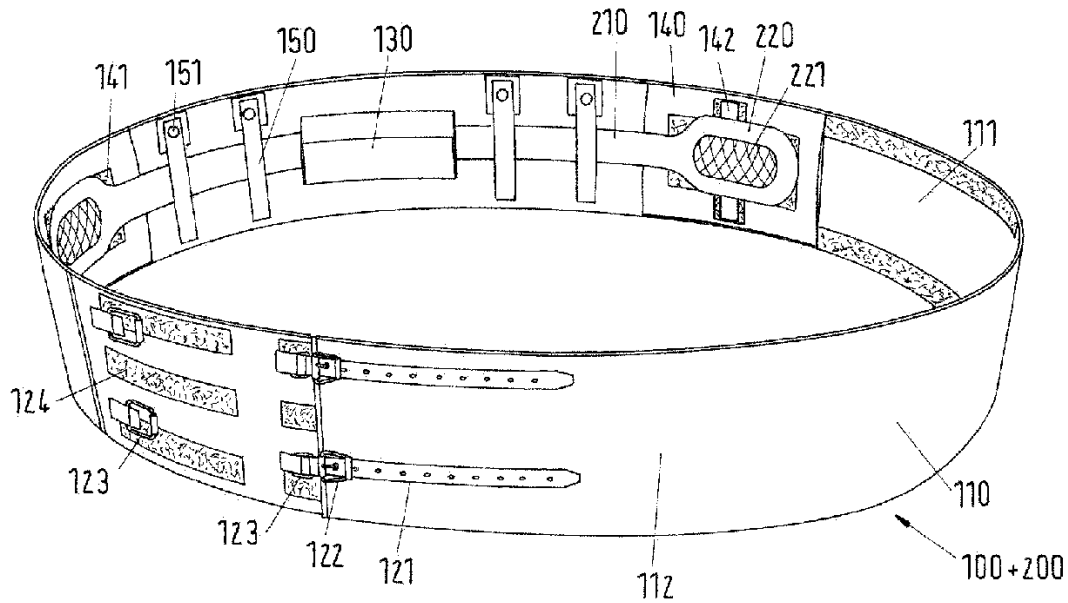


Abbildung 5: Schematische Darstellung des geschlossenen Fixiergurts mit dem angebrachtem Einlegeband (HACKE & PILZ, 2013)

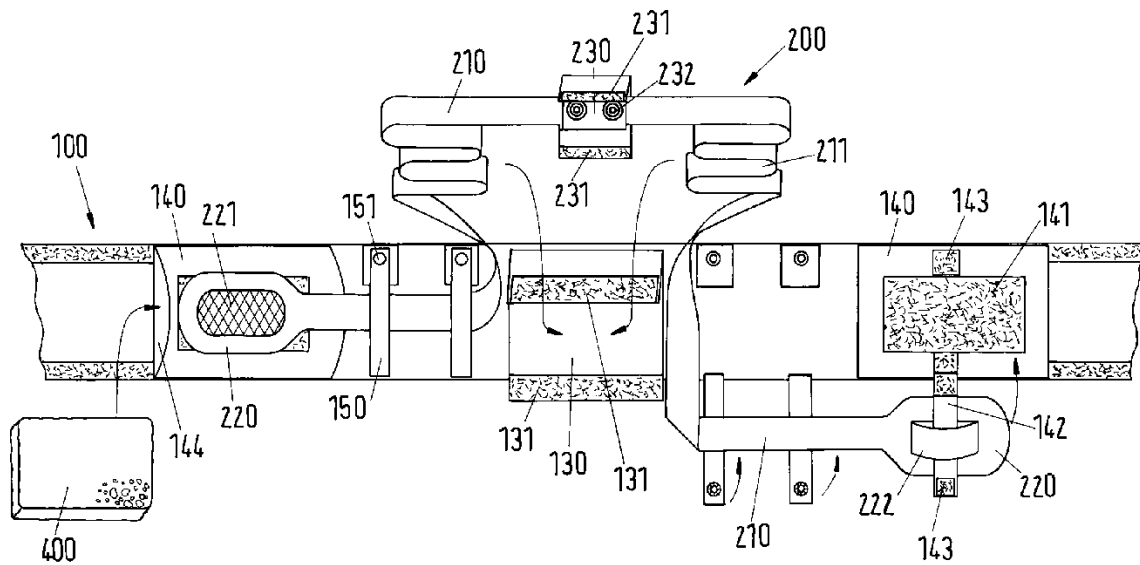


Abbildung 6: Schematische Aufsicht eines vergrößerten Ausschnitts der Innenseite des Fixiergurts (HACKE & PILZ, 2013)

Aufbereitung der HRV-Daten: Die gesendeten Daten wurden auf dem Trainingscomputer gespeichert und nach der Messung auf einen Computer mittels eines Infrarotadapters (Polar IrDA USB-Adapter W.I.N.D., Polar Electro Oy, Finnland) in das Programm “Polar ProTrainer 5 Equine Edition” (Version 5.35.161; Polar Electro Oy, Finnland) ausgelesen. Hier erfolgte für jedes fünfminütige Zeitfenster die automatische Korrektur (Filter Leistung: Moderat / Maximale Schutzzone: 6 S/min) der Artefakte, wenn die Fehlerkor-

rektur bei den fünf Minuten unter 10 % lag (MOHR et al., 2002; LANGBEIN et al., 2004). Die korrigierten Daten wurden anschließend in ein Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 2010, Microsoft Office 14.0) übertragen und der jeweilige, zur weiteren Auswertung ausgewählte Zeitabschnitt herauskopiert. Diese Datei wurde im Editor (Microsoft Office 14.0, Windows XP 64-Bit Edition) geöffnet und als Textdatei gespeichert. Mit der Kubios HRV software (BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP, 2008a) wurden die HR und HRV für die einzelnen fünfminütigen Zeitfenster durch eine Zeit- und Frequenzbereichsanalyse sowie die Analyse im nichtlinearen Bereich (u.a. *Recurrence Quantification Analysis (RQA)*) kalkuliert (Tabelle 9). Bei der Wahl der Grenzen der einzelnen Frequenzbänder wurden die von anderen Tierarten unterscheidenden Respirationsfrequenzen von Rindern berücksichtigt. Nach VON BORELL et al. (2007) befindet sich für Kühe der Bereich für *high frequency (HF)* von 0,2 bis 0,58 Hz, *low frequency (LF)* von 0,0133 bis 0,2 Hz und *very low frequency (VLF)* von 0,0033 bis 0,0133 Hz. Die Einstellungen in der Kubios HRV software waren für den Dimensionsbereich und die Zeitdifferenz $m = 10$ und $r = 1$, wobei der Schwellenwertabstand r nach \sqrt{mSD} ausgewählt wurde (BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP, 2008a).

2.4 Probennahmen und Analysen

2.4.1 Futtermittelproben

Die Rohrnährstoffanalyse der im Versuch verwendeten Grundfuttermittel (Silage, Stroh und Heu) wurden durch das Labor der Professur Ernährungsphysiologie und Tierernährung der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock (Frau Prof. Zeyner) durchgeführt. Die Proben wurden wöchentlich für den TM-Gehalt von der Gras- und Maissilage, vom Wiesenheu und den drei TMR gesammelt und analysiert (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, VDLUFA, 1993, Kapitel 3.1, Trockenmasse (**TM**): Probe für drei Stunden im Muffelofen bei 105°C trocknen). Für die Nährstoffanalyse wurden vom Heu, Gras- und Maissilage alle zwei Wochen und von den TMR alle drei Wochen Proben entnommen. Die Nährstoffgehalte der Proben wurden nach der WEENDER Futtermittelanalyse bestimmt (VDLUFA, 1993; in Kapitel 8.1 Rohasche (**XA**): Veraschung der getrockneten Proben

im Muffelofen für fünf Stunden bei 600 °C; in Kapitel 4.1.1 Rohprotein (**XP**): Kjeldahl-Verfahren, N multipliziert mit 6,25 und 5.1.1. Rohfett (**XL**): Etherextraktion, OSS Tecator Soxtec 2050; Rohstärke und –zucker: enzymatische Hydrolyse, Thermamyl 120, Novo Nordisk A/S, Dänemark, mittels HPLC (Shimadzu, Japan) nach SCHMIDT et al., 2005). Gehalte der *Neutral detergent fiber* (**NDF**) und *acid detergent fiber* (**ADF**) in den TMR-Proben wurden gemäß den Methoden der VDLUFA (1993) untersucht (Kapitel 6.5.1. und 6.5.2., nach VAN SOEST et al., 1991). Die Bestimmung der enzymlösba- ren organischen Substanz (**ELOS**) erfolgte nach der Cellulasemethode (VDLUFA, 1997; Kapitel 6.6.1.). Die Energiegehalte im Futter, Nettoenergie-Laktation (**NEL** in MJ/kg TM) und umsetzbare Energie (**ME** in MJ/kg TM), wurden gemäß den Gleichun- gen Formel 1 und 2 mit analysierten Rohnährstoffgehalten berechnet.

2.4.1 Blutproben

Das Blut wurde in Blutentnahmeröhrchen für die Analyse in Blutplasma aufgefangen und zu jeder Seite geschwenkt. Für die Bestimmung von Kortisol, Glukose, Insulin, nichtveresterten Fettsäuren (**NEFA**) und Beta-hydroxybuttersäure (**BHBA**) enthielten diese Röhrchen als Zusatz standardmäßig 12 ml FX Sodium Flourid/Potassium Oxalate (Vacuette, Frieckenhausen). Für die Bestimmung von Leptin wurde zusätzlich 100 µl Trasylol® (Bayer Pharma, Puteaux Cedex, Frankreich) zugesetzt. Die Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme in verschlossenen Styroporbehältern auf Eis gelegt und bis zur Weiterverarbeitung, maximal 30 Minuten später, gekühlt. Dazu wurden die Blutproben für 20 Minuten mit 2700 U/min (1565 x g) bei 4 °C zentrifugiert (Multifuge 3S-R, Heraeus Kendro Laboratory Products). Das Blutplasma wurde in Reaktionsgefäße 1,5 ml (Sarstedt, Nürnberg) pipettiert und anschließend bis zur Analyse bei -80 °C eingefroren. Die Analysemethoden sind in der Tabelle 2 zusammengefasst dargestellt. Glukose, NEFA und BHBA wurden im Labor der Klinik für Rinder an der Tierärztli- chen Hochschule Hannover spektrophotometrisch gemessen. Die Konzentration an Kor- tisol im Plasma wurde am Institut für Veterinär-Physiologie, Vetsuisse-Fakultät, Uni- versität Bern mittels Radioimmunassay (RIA) gemessen. Die Analyse von Insulin be- ziehungsweise von Leptin erfolgte am Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Physi- ologie und Hygiene der Universität Bonn mit RIA beziehungsweise Enzymimmunassay (ELISA).

Tabelle 2: Analysemethoden der Blutplasmaparameter

Parameter	Einheit	Bestimmungsmethode	Gerät	Hersteller	Kit
NEFA	μmol/l	Acyl-CoA Synthetase und Acyl-CoA-Oxidase (ACS-ACOD)	Pentra 400, ABX-Horiba Group	Wako/Vertrieb M T I ¹	600-215S
BHBA	mmol/l	Trispuffer 100 mmol, pH 8,5 enzymatisch	Pentra 400, ABX-Horiba Group	Randox ²	RB 1008
Glukose	mmol/l	Hexokinase	Pentra 400, ABX-Horiba Group	M T I ³	553-230
Kortisol	nM/l	RIA (nach THUN et al., 1981)			
Insulin	μU/ml	RIA (nach BELLMANN et al., 2004);		Linco Research ⁴	porcine kit (PI-12K)
Leptin	ng/ml	ELISA (nach SAUERWEIN et al., 2004)			

¹ Wako Chemicals GmbH, Neuss

² Randox Laboratories GmbH, Krefeld

³ MTI diagnostics GmbH, Idstein

⁴ Linco Research, St. Charles, MO, USA

2.4.2 Lebergewebeproben

Die Entnahme von Lebergewebsproben mittels Biopsie erfolgte in einem Untersuchungsstand. Den Tieren wurde die vorgesehene Einstichstelle, die sich auf der rechten Körperseite im zwölften Interkostalraum etwa 40 cm *ventral* der Lendenwirbelsäule befand, auf einer Fläche von etwa 10 x 10 cm rasiert. Anschließend wurde die Haut mit einer Jodlösung (Braunoderm®, Braun, Melsungen, Germany) gründlich desinfiziert und es erfolgte eine lokale Anästhesie mit zehn Millilitern zweiprozentigem Isocain (Selectavet, Weyarn-Holzolling). Nach zehn Minuten wurde die Wirkung überprüft und bei ausreichender Betäubung, keine Reaktion des Tieres bei Berührung des betreffenden Areals, wurde mit einem Skalpell die Haut auf ein bis zwei Zentimetern Länge eingeschnitten und bis zum Peritoneum durchstoßen. Anschließend wurde die Biopsienadel (Spezialanfertigung mit einem Innendurchmesser von sechs Millimetern, FBN, Dummerstorf, Germany) durch das Peritoneum in die Bauchhöhle in Richtung des gegenüber

liegenden Ellenbogengelenks eingeführt und eine Gewebeprobe von circa zwei bis drei Gramm entnommen. Der Hautschnitt wurde anschließend mit einem Einzelheft (Dermafil green Polyester 5metric USP 2/0, smi, Hünningen, Belgien) verschlossen und die Wunde mit Aluspray abgedeckt. Das Lebergewebe wurde von anheftendem Blut befreit, zerteilt, in Stickstoff schockgefroren und bei -80°C gelagert. Für die weiteren Analysen wurde das Lebergewebe in flüssigem Stickstoff zu einem homogenen Pulver gemörsert. Anschließend wurde der Gehalt an Glykogen und Glukose mittels eines UV-Tests (Boehringer Mannheim, Mannheim, Art. 10 207 748 035) gemessen. Der Kohlenstoffgehalt wurde nach KUHLA et al. (2004) mittels Infrarotabsorption bestimmt. Für die Untersuchung des Stickstoffgehaltes, ebenfalls nach KUHLA et al. (2004), wurde die Probe zunächst verascht und dann der Gehalt mittels einer Thermoleitfähigkeitszelle Leco CNS-2000 (Leco Corporation Saint Joseph, Michigan, USA) analysiert.

2.4.3 Milchproben

Die Milchuntersuchung nach Milchgüteverordnung erfolgte wöchentlich. Dafür wurden Mischproben aus dem Abendgemelk und dem darauffolgenden Morgengemelk gewonnen und durch den Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e.V. (LKV) mit der Fourier Transform Infrarot-Technologie (Milkoscan; Foss, Dänemark) auf den Gehalt an Fett, Laktose und Protein untersucht.

Während der Untersuchungen in der Respirationsskammer wurden Einzelmilchproben aus jedem Morgen- und Abendgemelk (Tag 1 und Tag 2) analysiert. Am Tag der Ausstellung (Tag 3) wurden die Milchproben aus dem Morgengemelk untersucht.

2.5 Berechnungen

Im Folgenden sind die in dieser Arbeit verwendeten Berechnungsformeln aufgeführt und ggf. erläutert.

Die Energiegehalte im Futter wurden mit den analysierten Rohnährstoffgehalten (XA, XP, XL, Stärke, NDF und ELOS in g/kg TM) berechnet (Formel 1 und 2). Die stoffwechselbedingte Proteinversorgung über die TMR wurde mit der Berechnung für nXP (g/kg TM; Formel 3) geschätzt, welches die Summe aus mikrobiellen Rohprotein und

dem Durchflussprotein (**UDP**) im Dünndarm widerspiegelt (MELESSE, 2012). Für die Ermittlung wurde die Formel 3 verwendet. Die Trockenmasseaufnahme (**TMA**) der Tiere wurde aus der täglichen Futteraufnahme und dem TM-Gehalt der Ration berechnet (Formel 4). Die energiekorrigierte Milchleistung (**ECM**) wurde nach der Gleichung von REIST et al. (2012) unter Berücksichtigung der Energiewerte (MJ) und der analysierten Inhaltsstoffe (g/kg), Rohfett, Rohprotein ($N \times 6,83$) und Laktose, in der Milch berechnet (Formel 8). Der LFC (Formel 9) wurde aus der TM des Lebergewebes sowie den Konzentrationen von Glykogen, Glukose, Kohlenstoff und Stickstoff nach der von KUHLA et al. (2004) beschriebenen Methode (Formel 9) berechnet.

Die WP (Formel 10) wurde aus den gemessenen Konzentrationen von Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid und Methan sowie der Stickstoffausscheidung über den Urin (N_u) berechnet. N_u wurde in dieser Studie nicht gemessen, sondern der festgelegte Wert von 50 g/d aus vorherigen Studien angewendet (BÖRNER et al., 2013b; DERNO et al., 2013).

Die gemessene WP, Futteraufnahme, TM, Nährstoffgehalte der Rationen, Lebendmasse (**LM**) sowie die Daten zu Milchmenge und –zusammensetzung wurden für die Berechnung der EBexp und EBest verwendet. Für EBexp und EBest wurde die TMA nach der Formel 4 und daraus die MEI (Formel 5) berechnet. In den meisten Ländern beruht die geschätzte EB auf dem System Nettoenergie-Laktation System. Für die Vergleichbarkeit von EBest und EBexp wurden in dieser Studie die Energieaufnahme (Formel 6) und der Erhaltungsbedarf (Formel 7) von der Einheit NEL in ME umgerechnet. Dafür wurden die folgenden Gleichungen mit der metabolischen Lebendmasse ($LM^{0,75}$) (KLEIBER, 1967) und MEI verwendet. EBexp wurde anhand der Formeln 11 und 12 für trächtige und laktierende Kühe ermittelt. Die Berechnung von EBest für trächtige (Formel 13 bis 15) und laktierende (Formel 16 bis 18) Kühe erfolgte auf der Basis von Gleichungen, die durch die GfE (2001), den NRC (2001) und die INRA (2007) publiziert wurden (zusammengefasst in GRUBER et al., 2008). Um die Vergleichbarkeit der EBexp und EBest zu sichern, wurde der Energieansatz für die Trächtigkeit mit der Formel nach GfE (2001) berechnet und für die laktierenden Tiere die ECM nach REIST et al. (2002) (Formel 8) ermittelt.

Formel 1: Energiegehalt NEL im Futter (WEIßBACH et al., 1996 in GfE, 2009)

$$NEL = ME [0,46 + 12,38 ME / (1000 - XA)]$$

Formel 2: Energiegehalt ME im Futter (PRIES et al., 2009, in GfE, 2009)

$$\text{ME} = 9,67 - 0,01698 \text{ XA} + 0,00340 \text{ XP} + 0,01126 \text{ XP} + 0,00123 \text{ Stärke} - 0,00097 \text{ NDF}_{\text{aschefrei}} + 0,00360 \text{ ELOS}$$

Formel 3: Nutzbares Rohprotein im Futter (GfE, 1997)

$$\text{nXP} = [11,93 - (6,82 \times (\text{UDP} / \text{XP}))] \times \text{ME} + (1,03 \times \text{UDP})$$

Formel 4: Trockenmasseaufnahme

$$\text{TMA (kg/d)}: \text{Futtermenge} \times \text{TM} / 100$$

Formel 5: Aufnahme der umsetzbaren Energie

$$\text{MEI (MJ ME/d)}: \text{ME Ration} \times \text{TMA}$$

Formel 6: Umrechnung von MJ NEL in MJ ME zur Aufnahme an ME

$$\text{MEI (MJ ME/d)} = \text{MEI (MJ NEL/d)} / 0,6$$

Formel 7: Umrechnung von MJ NEL in MJ ME des Erhaltungsbedarfes (GfE, 2001; GRUBER et al., 2008)

$$0,293 \times \text{kg LM}^{0,75} \text{ (MJ NEL)} = 0,488 \times \text{LM}^{0,75} \text{ (MJ ME)}$$

Formel 8: Energiekorrigierte Milch

$$\text{ECM (kg)} = [(0,038 \times \text{XL} + 0,024 \times \text{XP} + 0,017 \times \text{Laktose}) \times \text{Milchmenge}] / 3,14$$

Formel 9: Leberfettgehalt

$$\begin{aligned} \text{LFC (\% TM)} = & 1,3038 \times \text{C (\% TM)} - 4,237 \times \text{N (\% TM)} - 0,58 \times \text{Glykogen (\% TM)} \\ & - 0,5215 \times \text{Glukose (\% TM)} \end{aligned}$$

Formel 10: Wärmeproduktion nach Brouwer (1965)

$$\text{WP (kJ/d)} = 16,18 \text{ O}_2 \text{ (L/d)} + 5,02 \text{ CO}_2 \text{ (L/d)} - 5,99 \text{ N}_u \text{ (g/d)} - 2,17 \text{ CH}_4 \text{ (L/d)}$$

Formel 11: Energiebilanz (EBexp) aus kalorimetrisch bestimmten Respirationskammerdaten (ap)

$$\text{EBexp (MJ ME/d)} = \text{MEI (MJ ME/d)} - \text{WP (kJ/d)} / 1000$$

Formel 12: Energiebilanz (EBexp) aus kalorimetrisch bestimmten Respirationskammerdaten (pp)

$$\text{EBexp (MJ ME/d)} = \text{MEI (MJ ME/d)} - (3,14 \times \text{ECM (MJ/d)} + \text{WP (kJ/d)} / 1000)$$

Formel 13: EBest (ap) für trächtige Kühe nach GfE (2001)

$$\text{GfE: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (0,488 \times \text{LM}^{0,75} + 0,044 \times e^{0,0165 \times \text{Tag Konzeption}})$$

Formel 14: EBest (ap) für trächtige Kühe nach NRC (2001)

$$\text{NRC: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (0,534 \times \text{LM}^{0,75} + 0,044 \times e^{0,0165 \times \text{Tag Konzeption}})$$

Formel 15: EBest (ap) für trächtige Kühe nach INRA (2007)

$$\text{INRA: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (0,486 \times \text{LM}^{0,75} + 0,044 \times e^{0,0165 \times \text{Tag Konzeption}})$$

Formel 16: EBest (pp) für laktierende Kühe nach GfE (2001)

$$\text{GfE: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (3,14 \times \text{ECM} + 0,488 \times \text{LM}^{0,75})$$

Formel 17: EBest (pp) für laktierende Kühe nach NRC (2001)

$$\text{NRC: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (3,14 \times \text{ECM} + 0,534 \times \text{LM}^{0,75})$$

Formel 18: EBest (pp) für laktierende Kühe nach INRA (2007)

$$\text{INRA: EBest (MJ ME/d)} = \text{MEI} - (3,14 \times \text{ECM} + 0,486 \times \text{LM}^{0,75})$$

Formel 19: CO₂ aus ruminaler Fermentation (CO₂ferm) nach CHWALIBOG et al. (1996)

$$\text{CO}_2\text{ferm (L)} = 1,7 \times \text{CH}_4 \text{ (L)}$$

2.6 Statistische Methoden

Insgesamt wurden zwanzig Tiere untersucht. Die Größe der Stichprobe war in den einzelnen Auswertungen unterschiedlich, da teilweise Datensätze fehlten bzw. nicht ausgewertet werden konnten und nur Daten von klinisch gesunden Tieren mit in die Statistik einbezogen wurden. Aus diesem Grund wurde bei einer Kuh komplett auf die Datensätze verzichtet, da eine schwere Erkrankung über einen längeren Zeitraum vorlag. In jedem Ergebnisteil wird daher die Stichprobengröße zusätzlich zum Statistikteil angegeben. Mit dem verwendeten Statistikprogramm SAS/STAT Software (SAS INSTITUTE INC., 2011) erfolgte eine angepasste Modellbeschreibung für die unterschiedlichen Kapitelthemen. Die *last square means* (LSM) und deren Standardfehler wurden kalkuliert. Jeder Effekt wurde in jedem Modell mittels des Tukey-Kramer-Test für paarweise mehrfache Vergleiche statistisch abgesichert. Die Korrelationen wurden mit der Pearson Produkt-Moment-Korrelation Prozedur (CORR) getestet. Das Signifikanzniveau von $P < 0,05$ wurde für die statistische Auswertung determiniert.

2.6.1 Statistische Methoden Kapitel A

Die Daten für WP, WA, TMA, CO₂(ferm), Stehzeit-Liegezeit-Quotient (**SLQ**) und Aktivitätseinheiten (jeweils 240 Datensätze) wurden als 24-Stunden-Mittelwerte berechnet. Die Analysenergebnisse der Milchinhaltsstoffe wurden für den Tag 1, 2, 3 und 4 vom jeweiligen Morgen- und Abendgemelk gepoolt. Die Unterschiede zwischen den Variablen (WA, TMA, LM^{0,75}, BCS, WP, SLQ, Aktivität, NEFA, BHBA, CO₂(ferm)) und unterschiedlichen Zeitpunkten (Woche -4 ap und Woche 2 pp) wurden mit der einfachen ANOVA mit wiederholten Messungen analysiert. Dazu wurden die MIXED-Prozedur und ein Modell mit fixen Gruppeneffekten verwendet. Die Unterschiede zwischen EBexp und EBest (kalkuliert nach GFE, INRA, und NRC) wurden anhand der einfachen ANOVA mit wiederholten Messungen und der MIXED Prozedur getestet. Die Korrelationen wurden zwischen EBest sowie EBexp und allen Variablen sowie den Milchparametern (ECM, Milchfett, Milchprotein, Laktose) mit der CORR-Prozedur getestet und werden mit dem Pearson Cross-Korrelationskoeffizient (r) angegeben.

2.6.2 Statistische Methoden Kapitel B

Die Unterschiede bei den HRV-Parametern und den Energie-, Fütterungs- und Bewegungsparameter wurden bei einfacher ANOVA mit wiederholten Messungen zwischen den verschiedenen Perioden (P1-P3) getestet. Für die Auswertung wurden die kontinuierlichen Messwerte aller Parameter (Tabelle 11) außer KT (nur zwei Messwerte am Tag) als Mittelwerte für P1 (240 Datensätze), für P2 mit 99 Datensätze (6:30 bis 16:30 Uhr) und in der *Refeeding*-Periode mit 140 Datensätze (16:30 bis 6:30 Uhr) dargestellt. Nach der Auswertung der Reaktion von HF (ein Indikator für parasympathische Aktivität) auf das Fasten ($HFP2 - HFP1 = \Delta HFP2-P1$) der einzelnen Kühe wurden die Tiere einer von zwei Gruppen zugeteilt. In der Gruppe HF+ war die HF während des Fastens höher als in der *ad libitum* Fütterung, bei der Gruppe HF- verlief die Reaktion reziprok, d.h. die HF während des Fastens war geringer (Abbildung 20).

Anschließend wurden die HRV-Daten bei einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit wiederholten Messungen mithilfe der „MIXED“ Prozedur von SAS/STAT Software analysiert. Das ANOVA-Modell enthält die fixen Effekte der Gruppen (HF+ und HF-), die Perioden (P1, P2, P3) und die Interaktion zwischen Gruppe und Periode.

Wiederholende Messungen bei demselben Tier wurden durch die SAS Prozedur PROC MIXED Statement mit dem Gebrauch einer unstrukturierten Residuen Kovarianzmatrix erfasst. In einer weiteren Untersuchung wurde mit der linearen Regression (REG Procedure of SAS/STAT Software) das Verhältnis zwischen $\Delta\text{HFP2-P1}$ und HR, RR und *Maxline* (**LMAX**) zu P1 überprüft, ob ein geeigneter Biomarker vorhanden ist, der sensibel genug auf individuelle Kühe mit metabolischen Stress reagiert und welcher Schwellenwert dafür prädestiniert ist. LMAX war von den ausgewerteten HRV Parametern der einzige, der die Kriterien für einen möglichen Biomarker erfüllte. Folgende Gruppen kristallisierten sich dabei heraus: <LMAX (LMAX kleiner als Schwellenwert in P1) und > LMAX (LMAX größer als Schwellenwert in P1) (Abbildung 21). Nach der Einteilung der LMAX Gruppen anhand des Schwellenwertes wurde mit einfacher ANOVA die Gruppeneffekte (Test für Biomarker) folgender Parameter getestet: KT, WP, EB, CO₂(ferm), Futteraufnahme (TMA) und WA, Plasmakonzentration von NEFA, BHBA, Glukose, Kortisol, Insulin, SLQ, Aktivität und Milchparameter (ECM, Milchfett, Milchprotein, Milchlaktose und Fett/Protein-Quotient). Das erste ANOVA-Modell beinhaltete die fixen Effekte Gruppe (<LMAX und >LMAX) und Tag (Tag 1 = P1 und Tag 2 = P2 + P3 ap, Tag 3 = P1 und Tag 4 = P2 + P3 pp) sowie die Interaktionen zwischen Gruppe * Tag (Tabelle 12). Das zweite ANOVA-Modell wurde mit den fixen Effekten der Gruppe (<LMAX und >LMAX) und der Woche (Woche -5 bis -2 ap und Woche +2 bis +5 pp) sowie die Interaktion zwischen Gruppe und Woche gerechnet (Tabelle 13). Wiederholende Messungen bei demselben Tier wurden durch die SAS Prozedur PROC MIXED Statement mit dem Gebrauch einer unstrukturierten Residuen Kovarianzmatrix erfasst. Die Korrelationen wurden zwischen HRV-Parametern und allen Parameter, die den Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus beschreiben, mit der CORR-Prozedur getestet und werden mit dem Pearson Cross-Korrelationskoeffizient (r) angegeben.

Nachfolgend ist die Arbeit in zwei große Teile gegliedert (Kapitel A und B). Wie in den Hypothesen (1.1. Hypothesen und Zielstellung) genannt, wurden verschiedene Fragestellungen in zwei experimentellen Ansätzen untersucht, zum einem die vergleichenden Untersuchungen zur EB und zum anderen den Untersuchungen zur HRV.

3 Kapitel A – Vergleichende Untersuchungen der geschätzten und kalorimetrisch bestimmten Energiebilanz von Milchkühen

3.1 Literaturrecherche

3.1.1 Energiestoffwechsel

Die für die Aufrechterhaltung aller Lebensfunktionen benötigte Energie (PETRY, 2005) muss über die Nahrung aufgenommen oder vorübergehend aus den Körperreserven bereitgestellt werden (GRUMMER, 2004). Beim oxidativen Abbau der Nahrungsnährstoffe (Kohlenhydrate, Lipide, Proteine) entsteht Wasserstoff, dessen Oxidation in der Atmungskette der Mitochondrien entscheidend für die mitochondriale ATP-Synthese und damit die Energiebereitstellung in Form von ATP ist (OLDHAM & EMMANS, 1989; DERNO et al., 2005). Am effektivsten ist die Energiegewinnung aus Glukose und langkettigen Fettsäuren (JENTSCH & WITTENBURG, 1993), während Proteine durch ihren komplexen Aufbau bei Säugetieren nur unvollständig verbrannt werden (OLDHAM & EMMANS, 1989). Proteine werden vorwiegend als Körperbaustoff genutzt und müssen stetig ersetzt werden. Nur bei Energieunterversorgung werden Proteine zur Absicherung des Energiebedarfs herangezogen (KIRCHGEßNER et al., 1987; OLDHAM & EMMANS, 1989). Bei der Umwandlung von Nahrungsenergie in körpereigene Energieformen (oxidativer Stoffwechsel) entstehen variable Mengen an Wärmeenergie, die zur Aufrechterhaltung der physiologischen Körperkerntemperatur genutzt werden können. Ein Anstieg der Stoffwechselaktivität führt zu einer höheren WP, die durch aktive Wärmeabgabe ausgeglichen werden muss (JENTSCH et al., 2001; DERNO et al., 2005). Der spezifische Energiegehalt von Nährstoffen in Nahrungsmitteln, auch physikalischer Brennwert oder Bruttoenergie genannt, wird im Bombenkalorimeter durch die Verbrennungswärme bestimmt (KIRCHGEßNER, 2004). Im Körper wird die Verbrennungswärme durch Oxidation der Nährstoffe als physiologischer Brennwert bezeichnet (BROUWER, 1965). Aufgrund der auftretenden Energieverluste (Ausscheidung von Kot, Harn, Gärgase) im Körper kann nur ein Teil der Nahrungsenergie genutzt werden

(KIRCHGEßNER, 2004; PETRY, 2005). In Abbildung 7 ist die Verwertung der Nahrungsenergie im Organismus dargestellt.

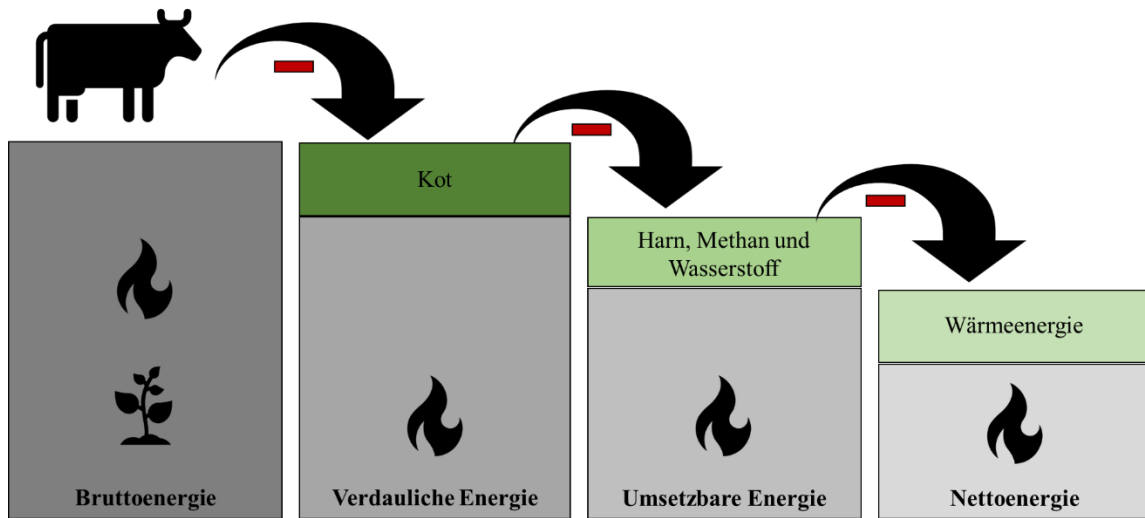


Abbildung 7: Energiebewertung (modifiziert nach KIRCHGEßNER, 2004)

3.1.2 Indirekte Kalorimetrie

Die indirekte Kalorimetrie (Abbildung 8) wird zur Berechnung der Energieumsatzrate aus dem gemessenen Gaswechsel angewendet (EVEN et al., 1994, DERNO et al., 2005). Die entstehende Wärmemenge wird mithilfe von stöchiometrischen Beziehungen aus dem Gaswechsel der Oxidation der Nährstoffe berechnet (PETRY, 2005). Für diese Berechnung ist die genaue Messung des Sauerstoffverbrauches, der Kohlenstoffdioxidproduktion und der Methanbildung erforderlich, um nach der Gleichung für Wiederkäuer von BROUWER (1965) die WP für Wiederkäuer zu ermitteln (DERNO et al., 2005).

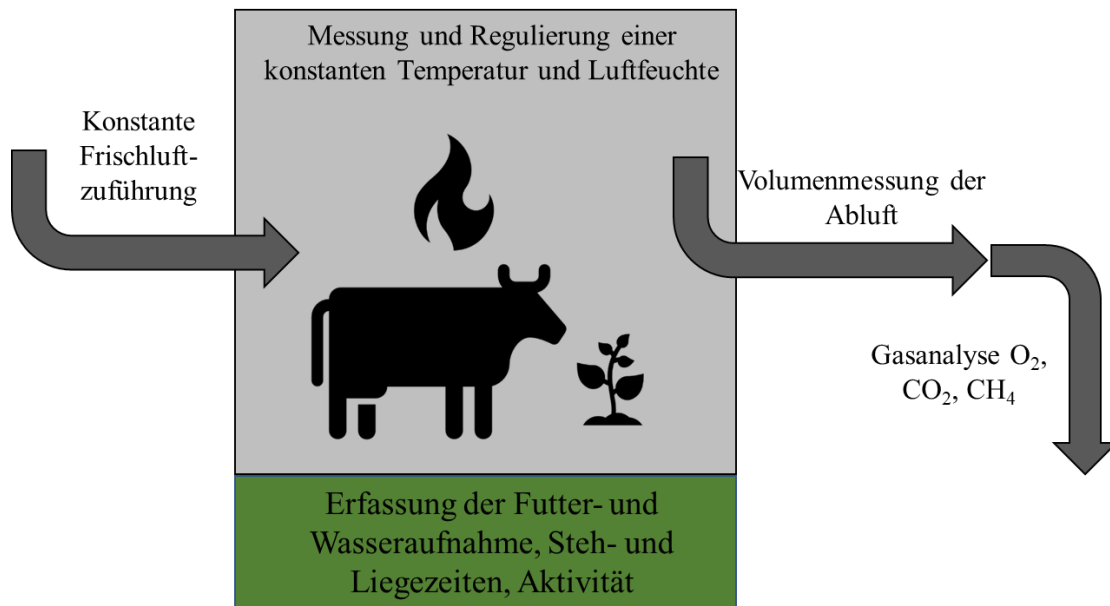


Abbildung 8: Schematisierte Respirationsskammer für Rinder zur Messung der indirekten Kalorimetrie (modifiziert nach KIRCHGEBNER, 2004; DERNO et al., 2009)

3.1.3 Energieumsatz und Energiebedarf der Milchkuh

Der Energieumsatz wird auch als Gesamtumsatz bezeichnet und aus dem Grund- und Leistungsumsatz ermittelt (PETRY, 2005). Demnach spiegelt der Grundumsatz die Energiemenge pro Zeiteinheit wider, die für alle lebensnotwendigen Prozesse, dazu zählen die stetige Funktion von Herz, Gehirn, Lunge, Leber oder Enzymen, benötigt wird (PETRY, 2005). Die Messung des Grundumsatzes der Tiere erfolgt ausschließlich im thermoneutralen, postabsorptiven, nüchternen und gesunden Zustand ohne motorische Aktivität (WHITE & SEYMOUR, 2005). Im Vormagensystem des Wiederkäuers findet unvermeidbar physiologisch essentielle, energieverbrauchende Verdauungsarbeit durch die Mikroben statt. Aus diesem Grund wird bei Wiederkäuern der Grundumsatz bei thermoneutraler Umgebungstemperatur gemessen (PETRY, 2005; WHITE & SEYMOUR, 2005). Der Grundumsatz, und damit der Erhaltungsbedarf, ist unterschiedlich ausgeprägt, abhängig von Alter, Geschlecht, Körperzusammensetzung, Körpergewicht und Körperoberfläche sowie vom Reproduktions-, Hormon- und Gesundheitsstatus (WHITE & SEYMOUR, 2005). Die Energieumsatzrate des Leistungsumsatzes (Gesamtumsatz minus Grundumsatz) entsteht durch Arbeitsleistungen, wie motorische Aktivität, Trächtigkeit, Muskelmasseaufbau, Eier- oder Milchproduktion (PETRY, 2005).

Für das praktische Fütterungsmanagement ist der **Erhaltungsbedarf** bedeutsam. Der Erhaltungsbedarf wird bei einer ausgewogenen EB definiert als der Grundumsatz plus den Energiebedarf für Thermoregulation, leichte Muskeltätigkeit, Futteraufnahme und Verdauungstätigkeit (GfE, 2001; MEYER, 2005). Bei zusätzlicher Leistung müssen Kühe zusätzlich Energie aufnehmen, um den entstehenden **Leistungsbedarf** absichern zu können (MEYER, 2005). Der Leistungsbedarf erhöht sich nicht nur bei einer steigenden Milchproduktion, sondern auch bei einer veränderten Zusammensetzung der Milch (z.B. mehr Fett), die dann einen höheren Brennwert aufweist (GfE, 2001). Aus diesem Grund gibt es starke Schwankungen zwischen den Produktionszweigen (Milch, Fleisch, Trächtigkeit) und der Ausprägung des Leistungsstadiums (KIRCHGEßNER, 2004).

3.1.4 Energiebilanz einer Milchkuh im peripartalen Zeitraum

Die EB ist die Differenz aus der aufgenommenen Energiemenge und der Energie für Erhaltung und Leistungen (WYLIE et al., 2008). Beträgt die EB Null, dann besteht ein Gleichgewicht zwischen Energieaufnahme und –abgabe; es müssen keine Körperreserven, in erster Linie Fett, zur Deckung des Energiebedarfes eingesetzt werden (VAN KNEGSEL et al., 2007).

Kurz zusammengefasst:

- $EB < 0$ = Energiebedarf nicht gedeckt = NEB = Fettmobilisierung
- $EB > 0$ = Energieaufnahme über den Bedarf = Aufbau Fettdepot

Eine NEB entsteht, wenn der Energiebedarf für die Erhaltung und Leistung nicht über die Futteraufnahme (Menge und Zusammensetzung) abgedeckt wird (GROSS et al., 2011). Die Futteraufnahme steigt in der Früh-laktation an, jedoch reicht die Erhöhung nicht für die Abdeckung der Milchproduktion aus (BLOCK et al., 2001; DRACKLEY, 2002; GRUMMER, 2004; HAMMON et al., 2009). Während die Milchleistung in der 3. bis 7. Woche pp am höchsten ist (VAN KNEGSEL et al., 2007; WEBER et al., 2013), erreicht die Trockensubstanzaufnahme erst nach 5 bis maximal 22 Wochen das Maximum (INGVARTSEN & ANDRESEN, 2002; DRACKLEY, 2002). Durch den zur Vorbereitung auf die Geburt modifizierten Hormonhaushalt (z.B. steigende Östrogen-

gehalte, vor der Geburt ansteigende und danach fallende Leptingehalte, sinkende Insulingehalte und während der Geburt ansteigende Kortisolgehalte) beginnen Veränderungen des Stoffwechsels und der Futteraufnahme bereits vor der Kalbung (INGVARTSEN, 2006; MARTENS, 2014). Milch ist zur Ernährung des Kalbes essentiell. Die Produktion beginnt, genetisch festgelegt, bereits vor der Geburt. Für die Milchbildung wird der Energiestoffwechsel angepasst (Homöorhese) und alle Körperreserven zur Kompensation der NEB mobilisiert (STÜRMER, 2009; MARTENS 2012). Die Ausprägung und der Zeitraum der NEB ist individuell unterschiedlich (BUTLER & SMITH, 1989) und abhängig von der Milchleistung in Relation zur Futteraufnahme. Aufgrund einer höheren Heritabilität und Zucht auf hohe Milchleistungen verlieren Kühe heutzutage viermal so viel Körpergewicht wie vor dreißig Jahren (MARTENS 2012). Auch der Zeitraum, in der eine NEB vorliegt, hat sich von sechzig Tagen auf hundert Tage pp verlängert (MARTENS, 2012). Dabei schwankt die Ausprägung der NEB von -63 MJ/Tag bis zu -115 MJ/Tag (VAN KNEGSEL et al, 2007; STÜRMER et al., 2009). Die Milchleistung pro Tag liegt in der Spitze bei 50 bis 60 kg, wofür viel Glukose benötigt wird (BRADE, 2016). Beim Rind erfolgt die Versorgung mit Glukose vorwiegend über die Glukoneogenese aus dem vom Pansen aufgenommenen Propionat, weshalb eine normale Pansenfunktion essentiell ist. Nur ein Drittel der Glukose wird direkt über den Dünndarm absorbiert. Untersuchungen von WADE & JONES (2004) zeigen, dass während einer bestehenden NEB die zur Verfügung stehende Energie nach einer gewissen Rangfolge verteilt wird (MARTENS, 2012). Zuerst werden die Organe mit essentiellen Funktionen, vor allem das Herzkreislaufsystem, versorgt (WADE & JONES, 2004; MARTENS, 2012). Danach wird Energie für die reduzierbaren Funktionen, wie Bewegung, Thermoregulation und Wachstum, zur Verfügung gestellt (WADE & JONES, 2004; MARTENS, 2012). Erst wenn diese Bedarfe gedeckt sind, wird verbleibende Energie für verzichtbare Funktionen wie Reproduktion und Fettaufbau verwendet (WADE & JONES, 2004; MARTENS, 2012).

3.1.4.1 Auswirkungen der NEB

Das Auftreten einer NEB, de facto eines Energiemangels, bei Milchkühen in der Laktation zeigt sich in einem Verlust an Körpergewicht und in einer erhöhten Konzentration an NEFA im Blut durch die Mobilisation von Körperfett und -protein (TAMMINGA et al., 1997; WYLIE et al. 2008; GROSS et al., 2011). Damit einhergehend werden eine verstärkte Anfälligkeit für Stoffwechselerkrankungen, wie Ketose oder einer Fettleber

(REIST et al., 2002; LEBLANC et al., 2006), und eine Immunsuppression gesehen (KNIGHT et al., 1999; COLLARD et al., 2000; DRACKLEY, 2002; GOFF, 2006; VAN KNEGSEL et al., 2007). Ein aktiviertes Immunsystem beansprucht einen Großteil der zur Verfügung stehenden Energie. Steht diese Energie in Phasen einer persistierenden NEB nicht zur Verfügung, führt dies zu einem geschwächten Immunsystem und in Folge zu krankheitsanfälligeren Tieren (COLLARD et al., 2000; DRACKLEY, 2002; VAN KNEGSEL et al., 2007). Weiterhin ist die NEB mit einem verspäteten Einsatz der ersten Ovulation, verringerten Erstbesamungserfolgen und einer reduzierten Konzeptionsrate (CHILLIARD et al., 1998; REIST et al., 2003; LOPEZ et al., 2004) verbunden. Durch die NEB werden zunächst NEFA aus dem Fettgewebe ins Blut freigesetzt (FRISCH & VERCOE, 1977; DRACKLEY et al., 2001; HAMMON et al., 2009). Ein Teil dieser NEFA wird zur Milchfettsynthese verwendet. Der überwiegende Teil gelangt in die Leber. In diesem zentralen Stoffwechselorgan werden die NEFA primär für die Energiegewinnung bereitgestellt. Gelangen jedoch mehr NEFA in die Leber, als durch oxidative Prozesse verwertet werden können, müssen diese alternativ genutzt werden. In erster Linie erfolgt dies durch Speicherung oder den Umbau zu Ketonkörpern und deren Abgabe in den Blutstrom um anderen Organen zur Energiegewinnung zu dienen (MARTENS, 2012). Der Stoffwechsel wird bei einer sehr starken Mobilisierung der Fettsäuren erheblich belastet (STÜRMER, 2009). Die Ausschleusung von Ketonkörpern, zu deren wichtigsten die BHBA zählt, begünstigt die Entstehung einer Ketose. In Abhängigkeit von der BHBA-Konzentration im Blut wird zwischen einer subklinischen ($> 1,0$ und $< 3,0$ mmol/L) und einer klinischen ($> 3,0$ mmol/L) Ketose unterschieden (KOLB, 2005). Eine Speicherung überschüssiger NEFA in der Leber führt zu einer Leberverfettung (MARTENS, 2012). Dies hat einen negativen Einfluss auf die Glukoneogenese, was zu Leistungseinbußen sowie Folgeerkrankungen führen kann (DGFZ, 2013), die häufig subklinisch verlaufen (INGVARTSEN, 2006). Überschüssige NEFA können auch eine Verschlechterung der Glukoseaufnahme aus dem Blut (Insulinresistenz) begünstigen (BELL, 1995). Eine starke Mobilisierung von Körperreserven bedeutet damit eine erhebliche zusätzliche Belastung für den Stoffwechsel (STÜRMER, 2009) und wird mit dem Auftreten von Infektionserkrankungen, wie Mastitis, in Zusammenhang gebracht. Eine NEB begünstigt auch indirekt die Entstehung weiterer Stoffwechselstörungen, z.B. Pansenazidose. Als Reaktion auf die NEB verändert sich meist die Rationsgestaltung. Um die benötigte Energie für die Milchproduktion über das Futter zu liefern wird vermehrt Kraftfutter in den TMR eingesetzt (BUTLER & SMITH,

1989; MEYER, 2005). Relativ zu hohe Kraftfuttergaben begünstigen das Auftreten subakuter Pansenazidose, die durch einen Pansen pH-Wert $< 5,5$ für mindestens 180 Minuten gekennzeichnet ist. Diese Übersäuerung hat auch Auswirkungen auf die Hornbildung, was mit Klauenproblemen einhergeht (MARTENS, 2012). Nach aktuellem Forschungsstand wird daher davon abgeraten, das Energiedefizit mit einer aufgrund übermäßiger Kraftfutterzulage energiereicheren Ration in der Laktation auszugleichen, da ausschließlich Verdauungsprobleme verursacht werden und nicht der gewünschte Ausgleich der NEB erfolgt, die Energieaufnahme bei stoffwechselerkrankten Tieren sogar noch weiter sinken kann (DGFZ, 2013).

3.1.4.2 Parameter zur Überwachung der EB

Die genaue Bestimmung der EB kann nur unter experimentellen Bedingungen und nur durch indirekte Kalorimetrie in Respirationskammern erfolgen (siehe Kapitel 3.1.2). In der Praxis wird auf einfachere Hilfsmittel zur Abschätzung der EB zurückgegriffen, mit dem Nachteil der zunehmenden Ungenauigkeit bzw. begrenzten Aussagefähigkeit. Zur Überwachung der Stoffwechselsituation der Kühe im Rahmen des Herdenmanagements dienen der BCS (EDMONSON et al., 1989; DOMEQ et al., 1997; MAHLKOWNERGE, 2011), der Gehalt bestimmter Metaboliten, wie NEFA und BHBA, im Blut (VAN KNEGSEL et al., 2007), oder der Fett-Eiweiß-Quotient in der Milch (DE VRIES & VEERKAMP, 2000; REIST et al., 2002). Weiterhin kann die EB durch die Differenz aus der Energieaufnahme und Energieabgabe mithilfe von Hilfgleichungen ermittelt werden (MEYER, 2005).

Ein einfaches Hilfsmittel zur Abschätzung der EB der Tiere ist die Schätzung des BCS oder die Messung der RFD per Ultraschall. Beide Methoden dienen zur Beurteilung der Körperkondition und der LM-Veränderung vor allem in der peripartalen Phase (ROSSOW, 2003). Hierbei ist die Ermittlung des BCS die kostengünstigere Variante und spiegelt die EB-Situation der Kühe im Laufe der Reproduktionszyklen wider (HEUWIESER & MANSFELD 1992). Bei der Bestimmung des BCS wird der Körper an bestimmten Punkten optisch und palpatorisch je nach Ausprägung, und damit indirekt die Fettauflage von 1 bis 5, bewertet, wobei eine 1 für sehr mager und eine 5 für sehr fett steht (BRINKMANN et al., 2016). Bei der Messung der RFD kann aufgrund der Korrelation zwischen der RFD und dem Fettgehalt des gesamten Körpers z.B. bei einer Zunahme der RFD um einen Millimeter von einer Erhöhung des Körperfettgehal-

tes um etwa fünf Kilogramm ausgegangen werden (KLAUHN & STAUFENBIEL, 1997). Der BCS und die RFD sind zur Einschätzung der Körperkondition und deren Entwicklung besser geeignet als die Wägung, da nach der Kalbung die Fettmobilisation zunimmt und gleichzeitig die Futteraufnahme ansteigt (ROSSOW, 2003). Anhand einiger Stoffwechselfparameter oder Milchinhaltsstoffe kann die EB indirekt beurteilt werden. Eine Erhöhung des Gehalts an NEFA und BHBA im Blutplasma sowie ein geringer Leptingehalt im Blut gehen mit einer NEB einher (ROSSOW, 2003; KOKKONEN et al., 2005). Dabei korrelieren vor allem NEFA und BHBA negativ mit der TMA (GRUMMER, 1993). Leptin ist ein Proteohormon, das vorwiegend in den Fettzellen des weißen Fettgewebes exprimiert wird und eine bedeutende Funktion bei der Regulierung des Fettstoffwechsels hat (REIST et al., 2003; WATHES et al., 2007). Es ist im Blutkreislauf entweder ungebunden vorzufinden oder an spezifische Proteine gebunden. Ein erhöhter Leptingehalt im Blut reduziert das Hungergefühl und damit die Futteraufnahme (CHILLIARD et al., 2001; KOKKONEN et al., 2005; WEBER et al., 2013):

Bei einer angepassten Fütterung und einem ausgeglichenen Stoffwechsel befindet sich der Milchparameter Fett-Eiweiß-Quotient in einem Bereich von 1,0 und 1,5. Eine Unter- („subklinische Azidose“) oder Überschreitung („subklinische Ketose“) des Bereiches deutet immer auf einen gestörten Stoffwechsel hin (BRINKMANN et al., 2016).

Für die Kalkulation der EB mithilfe von Gleichungen sind die Energiedaten über die Futteraufnahme und die Abgabe über die Milch erforderlich (ROSSOW, 2003). Der Bedarf an ME für Erhaltung, physikalische Aktivität, Trächtigkeit und Milchproduktion wird nach länderspezifischen Formeln berechnet, die in Deutschland von der GfE (2001), in Frankreich vom INRA (2007) und in den USA vom NRC (2001) publiziert werden.

Die Basis für die Energiebewertung ist die ME. Die Nettoenergiesysteme sind davon abgeleitet und berücksichtigen die Verluste für die Umwandlung der ME für die spezifische Verwertung wie Erhaltung, Milchsynthese, LM-Zunahme und Mobilisierung des Körpergewebes in der Laktation (GfE, 2001; KEBREAB et al., 2003; GRUBER et al., 2008). Für Milchkühe sind die Konstanten zur Ermittlung des Nettoenergiebedarfs für die Erhaltung von kalorimetrischen Messungen mit Ochsen und fastenden, trockenstehenden Kühen (zusammengefasst in GfE, 2001) oder durch lineare Regressionsanalysen mithilfe der Differenz aus Energieaufnahme und Abgabe der Milchenergie abgeleitet

worden (SCHIEMANN et al., 1971; MOE et al., 1972; VAN ES, 1975). Neuere Untersuchungen von YAN et al. (1997) zeigen, dass die Werte für die ME für Milch etwa 12 bis 15 % höher liegen müssen als bisher in den älteren Studien ermittelt worden ist, worauf die aktuellen Empfehlungen zur Schätzung des Energiebedarfs der einzelnen Länder beruhen.

Die in dieser Studie vorliegenden Daten zum Energieumsatz werden genutzt, um Aussagen zur Genauigkeit der aktuellen Schätzformeln zur EB abzuleiten und EBexp und EBest zu vergleichen.

3.2 Ergebnisse Kapitel A

3.2.1 Zootechnische Parameter

Die Futteraufnahme der Kühe liegt vor der Kalbung im Durchschnitt bei 12 kg, steigt kurz vor der Kalbung kurzfristig an und sinkt von der Woche -2 zur -1 ab. Nach der Kalbung nimmt die Futteraufnahme kontinuierlich zu und liegt zum Zeitpunkt der Schlachtung im Mittel bei 20 kg. Die EBest ist ap im positiven Bereich bei 30 MJ NEL pro Tag und fällt pp stark in den negativen Bereich ab (-334 %). Der Tiefpunkt liegt am 2. Tag pp bei -69 MJ NEL/Tag. Sowohl TMA als auch EBest unterscheiden sich hoch signifikant zwischen ap und pp (Abbildung 9).

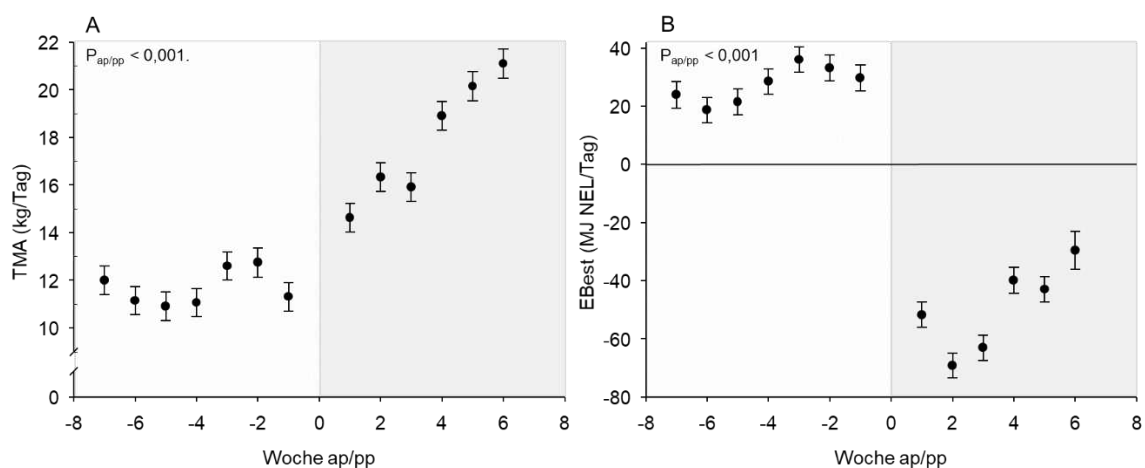


Abbildung 9: Verlauf der TMA (A) und der EBest (B) ap (n=18) und pp (n=19) (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

LM und Rückfettddicke nehmen von der Woche -7 bis -5 ab. Erst ab der Woche -5 steigen sowohl die LM von 740 kg auf 780 kg, als auch die RFD von 16 auf 19 mm an. Der Verlust an LM nach der Kalbung liegt im Durschnitt bei über 100 kg in der 1. und 2. Woche; ab der 3. Woche pp verändert sich die LM (635 kg) bis zur Schlachtung nur noch unwesentlich. Die RFD verringert sich erst ab der 2. Woche pp und danach kontinuierlich bis auf 12 mm in der 6. Woche pp. Die LM und RFD unterscheiden sich ap und pp hoch signifikant (Abbildung 10).

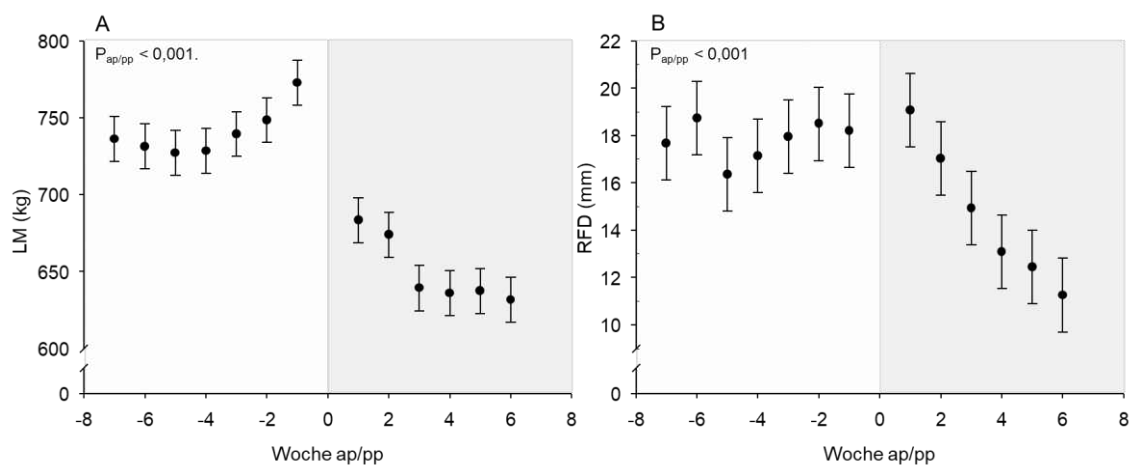


Abbildung 10: Verlauf der LM (A) und der RFD (B) ap (n =18) und pp (n = 19) (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)

Die KT steigt in den Wochen vor der Kalbung von 38,1 °C auf 38,7 °C an. Nach der Kalbung fällt sie zunächst in der 1. Woche pp auf 38,3 °C ab, steigt in der 2. und 3. Woche pp wieder an, um anschließend erneut auf 38,1°C zu fallen und auf diesem Niveau zu bleiben. Insgesamt unterscheidet sich die KT ap und pp signifikant voneinander (Abbildung 11).

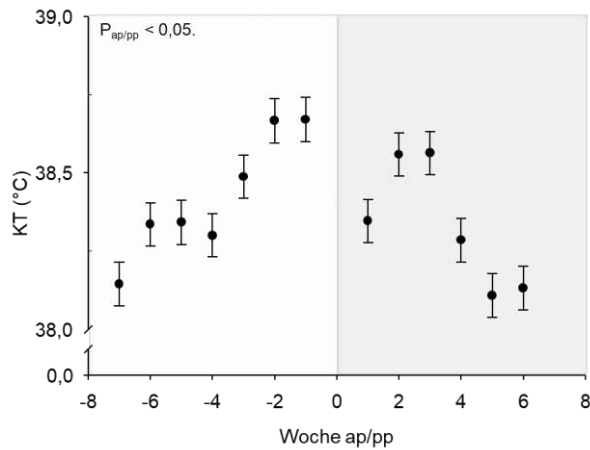


Abbildung 11: Verlauf der KT ap (n =18) und pp (n = 19) (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

3.2.2 Blutparameter

Ein Vergleich der analysierten Blutparameter NEFA, BHBA, Glukose, Insulin und Leptin vor und nach der Kalbung zeigt wie erwartet deutliche, signifikante Unterschiede (Abbildung 12 bis 14). Vor dem Abkalben sind die Werte von NEFA, BHBA und Glukose relativ konstant. Nach der Kalbung erhöht sich der NEFA-Blutplasmaspiegel auf 1094 $\mu\text{mol/l}$ in Woche 3 pp. Zum Vergleich: in Woche -1 ap liegt der Blutplasmaspiegel noch bei 231 $\mu\text{mol/l}$. Der Gehalt an BHBA erreichte sein Maximum von 0,87 mmol/l schon in der 2. Woche pp. Der Plasmaglukosegehalt fällt beginnend mit der -1. Woche ap ab und erreicht in der 2. Woche pp den Minimalwert von 3,5 mmol/l. Die höchsten Plasmaleptinspiegel mit 9,1 ng/ml wurden in der -3. Woche ap gemessen. Danach verringern sich die Werte von Leptin deutlich bis zur 2. Woche pp und pendeln sich danach auf einem Niveau von 4,6 ng/ml ein. Alle Blutparameter unterscheiden sich hoch signifikant zwischen ap und pp.

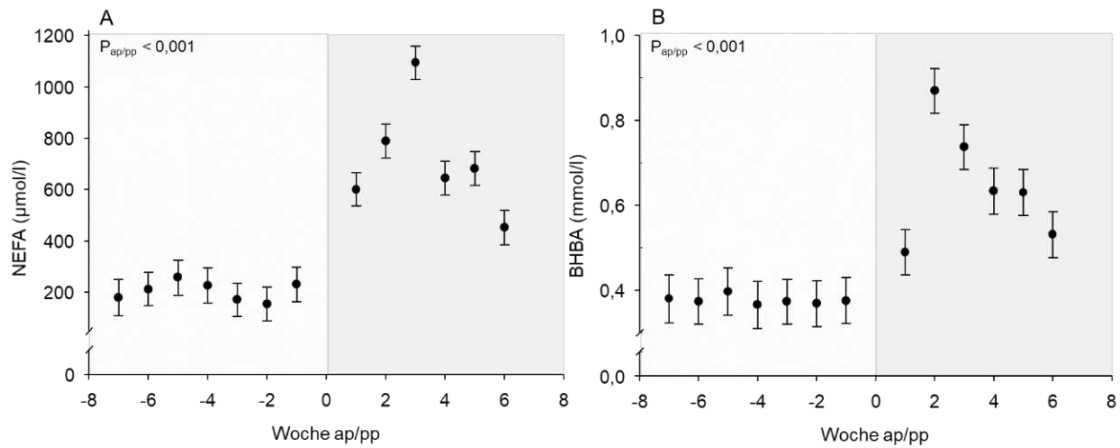


Abbildung 12: Verlauf von NEFA (A) und BHBA (B) im Blutplasma ap (n=18) und pp (n=19) (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

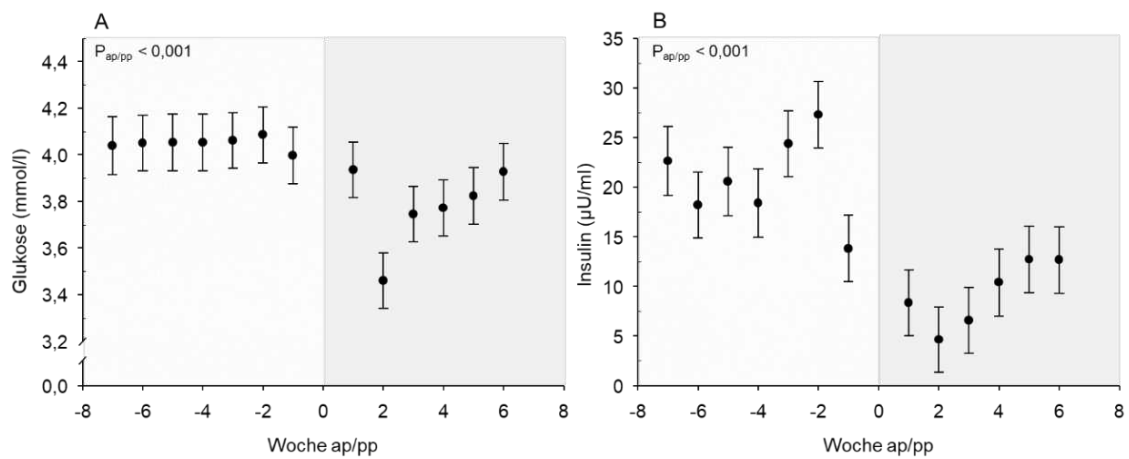


Abbildung 13: Verlauf von Glukose (A) und Insulin (B) im Blutplasma ap (n=18) und pp (n=19) (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

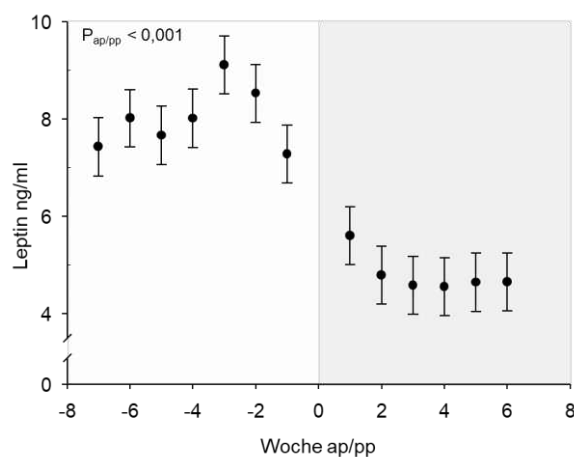


Abbildung 14: Verlauf von Leptin im Blutplasma ap (n=18) und pp (n=19) (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

3.2.3 Milchparameter

Die ECM-Leistung erreichte in der 1. Woche pp 33,5 kg pro Tag und stieg in der 2. Woche signifikant weiter an auf 45,9 kg (Tabelle 3). Bis Versuchsende blieb die Milchleistung auf diesem Niveau. Im Vergleich zu den Vorwochen war der MilCHFettgehalt in den Wochen 4 und 5 pp signifikant niedriger. Der Proteingehalt verringerte sich signifikant von der 1. zur 2. und zur 3. Woche pp und blieb anschließend auf diesem Niveau. Der Milchlaktosegehalt erhöhte sich signifikant von der 1. zur 2. Woche.

Tabelle 3: Verlauf der Milchparameter (n = 19) von der 1. bis zur 5. Woche (LS Means \pm Standardfehler)

Parameter	Einheit	Woche				
		LS Mean \pm SE				
		1	2	3	4	5
ECM	kg/d	33,5 ^b \pm 1,26	45,9 ^a \pm 1,26	44,2 ^a \pm 1,26	45,5 ^a \pm 1,28	45,9 ^a \pm 1,40
Milchfett	%	5,32 ^a \pm 0,24	5,29 ^a \pm 0,21	5,32 ^a \pm 0,21	4,68 ^b \pm 0,21	4,56 ^b \pm 0,21
Milchprotein	%	4,23 ^a \pm 0,10	3,52 ^b \pm 0,08	2,97 ^{bc} \pm 0,08	3,03 ^{bc} \pm 0,08	2,97 ^{bc} \pm 0,08
Milchlaktose	%	4.49 ^b \pm 0.05	4.73 ^a \pm 0.04	4.73 ^a \pm 0.04	4.79 ^a \pm 0.04	4.80 ^a \pm 0.04

^{a, b, c} = Signifikante Unterschiede zwischen Woche 1, 2, 3, 4 und 5 (P < 0,05)

3.2.4 Korrelationen zwischen EBest und zootechnischen -, Blut- und Milchparametern

Die TMA und der NEFA-Gehalt im Blutplasma sind sowohl ap als auch pp eng mit der EBest korreliert (Tabelle 4). Die Plasmaspiegel von Insulin und Leptin korrelieren nur ap mit der EBest, währenddessen RFD, KT und BHBA nur nach der Kalbung in signifikanter Korrelation zur EBest stehen. Bei den Milchparametern interagierten Milchfett und Milchlaktose statistisch abgesichert mit der EBest.

Tabelle 4: Korrelation der EBest mit den zootechnischen, Blut- und Milchparametern ap (Woche – 7 bis Kalbung; n =18) und pp (Kalbung bis 6. Woche; n = 19) (Pearson Cross-Korrelationskoeffizient und Signifikanzniveau)

Parameter	Einheit	EBest			
		MJ NEL/Tag			
		ap		pp	
		r	P	r	P
TMA	kg/d	0,85	<0,001	0,55	<0,001
LM^{0,75}	Kg^{0,75}	0,02	0,79	-0,18	0,08
BCS		-0,07	0,46	-0,13	0,22
RFD		-0,06	0,54	-0,39	<0,001
KT		0,08	0,39	-0,33	<0,001
NEFA	µM/l	-0,43	<0,001	-0,42	<0,001
BHBA	mM/l	0,15	0,09	-0,25	0,01
Glukose		0,03	0,73	0,12	0,24
Insulin	l/h	0,34	<0,001	0,06	0,57
Leptin		0,41	<0,001	-0,10	0,35
ECM	kg/d			-0,14	0,19
Milchfett	%			-0,63	<0,001
Milchprotein	%			-0,24	0,02
Milchlaktose	%			0,39	<0,001

3.2.5 Vergleich der EBest und EBexp

Die Ergebnisse der EBexp zeigen einen ausgeglichenen Wert bei den trächtigen, trockenstehenden Kühen ($2,74 \pm 4$ MJ ME/Tag) 4 Wochen vor der Kalbung (Abbildung 15). Nach der Kalbung (2 Wochen pp) ist die EBexp bei den laktierenden Kühen ($-84,7 \pm 7$ MJ ME/Tag) tief im negativen Bereich. Im Vergleich dazu sind die EBest der einzelnen Länder GfE (2001), NRC (2001) und INRA (2007) vor der Kalbung (37 ± 6 ; 31 ± 6 und 38 ± 6 MJ ME/Tag) signifikant höher und nach der Kalbung (-16 ± 6 ; -22 ± 6 und -16 ± 6 MJ ME/Tag) nicht so tief (signifikant) im negativen Bereich wie bei EBexp.

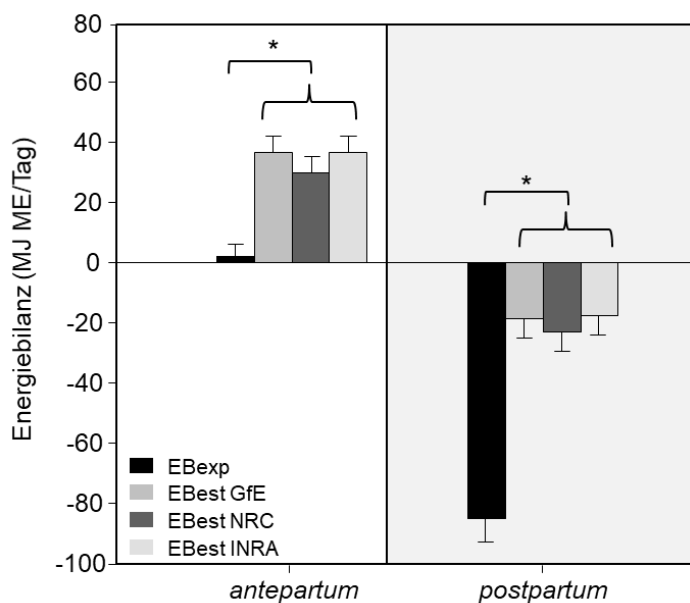


Abbildung 15: Vergleich der EBexp und EBest (GfE, NRC und INRA) von trockenstehenden (ap Woche -4; n = 18) und laktierenden (pp Woche +2; n = 19) Kühen (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau $P < 0,001$ mit *)

Die Delta-Werte von EBexp und EBest (GfE, NRC und INRA) bestätigen die hoch signifikanten Unterschiede zwischen der EBexp und EBest zum Zeitpunkt ap (33 MJ ME/Tag) und pp (67 MJ ME/Tag) (Tabelle 5). Aus den Delta-Werten geht weiterhin hervor, dass die Abweichung zwischen EBexp und EBest in der frühen Laktation noch stärker ausgeprägt ist als vor der Kalbung.

Tabelle 5: Differenz der EBexp und EBest (GfE, INRA, NRC) von trockenstehenden (ap Woche -4; n = 18) und laktierenden (pp Woche 2; n = 19) Kühen (LS Means \pm Standardfehler und Signifikanzniveau)

Parameter	Einheit	ap	P	pp	P
		LS Mean \pm SE		LS Mean \pm SE	
Δ EB (GfE) – (EBexp)	MJ ME/d	34,7 \pm 5,75	<0,001	68,6 \pm 8,05	<0,001
Δ EB (NRC) – (EBexp)	MJ ME/d	28,2 \pm 5,72	<0,001	62,4 \pm 8,07	<0,001
Δ EB (INRA) – (EBexp)	MJ ME/d	35,0 \pm 5,75	<0,001	68,9 \pm 8,05	<0,001

Die WA, TMA und WP sind pp hoch signifikant gestiegen (Tabelle 6). Die LM^{0,75} und der BCS zeigen eine statistisch abgesicherte Verringerung der Werte. Die Aktivität der Tiere ist nach der Kalbung tendenziell höher während der SLQ der Tiere auf keine Ver-

änderung hindeutet. Die Stoffwechselfparameter aus dem Blutplasma, BHBA und NEFA, zeigen pp einen signifikanten Anstieg auf die doppelten bis dreifachen Werte. Die CO₂(ferm) ist nach der Kalbung ebenfalls hoch signifikant gestiegen. Die ECM-Leistung liegt im Durchschnitt aller Kühe bei 47 kg pro Tag mit einem Fettgehalt über 5 %, Proteingehalt von 3,5 % und einem Laktosegehalt von fast 5 %.

Tabelle 6: Zootechnische, Stoffwechsel- und Milchparameter vor (ap Woche -4; n = 18) und nach (pp Woche +2; n = 19) der Kalbung (LS Means ± Standardfehler und Signifikanzniveau)

Parameter	Einheit	ap	pp	P
		LS Mean ± SE	LS Mean ± SE	
WA	l/d	29,9 ± 2,64	73,4 ± 2,59	<0,001
TMA	kg/d	11,1 ± 0,61	17,5 ± 0,57	<0,001
LM ^{0,75}	kg ^{0,75}	140 ± 1,80	135 ± 2,10	0,001
BCS		3,26 ± 0,15	2,79 ± 0,17	<0,01
WP	kJ/kg ^{0,75} /d	762 ± 24,9	1024 ± 20,1	<0,001
Physische Aktivität	Impulse/h	11170 ± 1128	13705 ± 1119	0,06
SLQ		1,94 ± 0,40	2,01 ± 0,25	n.s.*
NEFA	µM/l	171 ± 21,6	511 ± 33,1	<0,001
BHBA	mM/l	0,43 ± 0,02	0,88 ± 0,13	<0,01
CO ₂ (ferm)	l/h	2,34 ± 0,11	3,39 ± 0,08	<0,001
ECM	kg/d		47,2 ± 1,51	
Milchfett	%		5,29 ± 0,19	
Milchprotein	%		3,53 ± 0,06	
Milchlaktose	%		4,74 ± 0,03	

Auch für die Milch-, Blut- und zootechnischen Parameter wurden Korrelationsberechnungen zur EBexp durchgeführt (Tabelle 7). Die TMA ist ap positiv (r = 0,8) hoch signifikant mit der EBest korreliert, die LM^{0,75} pp negativ (r = -0,7). Des Weiteren sind signifikante, negative Korrelationen zwischen NEFA und EBexp sowohl ap (r = -0,6) als auch pp (r = -0,5) aufgetreten. CO₂(ferm) (r = 0,5) korreliert nur vor der Kalbung mit

EBexp. Bei den Milchparametern gibt es zwischen der ECM ($r = -0,6$), Milchfett ($r = -0,7$) und Laktose ($r = 0,5$) signifikante Wechselwirkungen mit EBexp.

Tabelle 7: Korrelation zwischen EBexp und zootechnischen, metabolischen sowie Milchparametern vor (ap Woche -4; $n = 18$) und nach (pp Woche +2; $n = 19$) der Kalbung (Pearson Cross-Korrelationskoeffizient und Signifikanzniveau)

Parameter	Einheit	EBexp	P	EBexp	P
		MJ ME/Tag		MJ ME/Tag	
		ap		pp	
WA	l/d	0,23	0,357	-0,20	0,40
TMA	kg/d	0,80	<0,001	0,38	0,11
LM ^{0,75}	kg ^{0,75}	0,03	0,89	-0,70	<0,001
BCS		-0,43	0,07	-0,24	0,33
WP	kJ/kg ^{0,75} /d	0,18	0,47	-0,40	0,09
Physische Aktivität	Impulse/h	0,34	0,17	-0,21	0,38
SLQ		-0,14	0,57	-0,31	0,19
NEFA	µM/l	-0,60	<0,01	-0,50	0,04
BHBA	mM/l	0,13	0,62	0,03	0,90
CO ₂ (ferm)	l/h	0,53	0,02	0,40	0,09
ECM	kg/d			-0,60	<0,01
Milchfett	%			-0,73	<0,001
Milchprotein	%			-0,08	0,73
Milchlaktose	%			0,52	0,02

3.3 Diskussion Kapitel A

Analog zur Unterschätzung des Energiebedarfs unterschätzt die GfE (2001) auch die TMA trächtiger, trockenstehender Kühe deutlich. Diese ist in diesem Versuch mit durchschnittlich $11,1 \pm 0,6$ kg/Tag (Tabelle 6) deutlich höher als in den Vergleichswerten der GfE mit 8,4 kg/Tag. In der Früh-laktation empfiehlt die GfE (2001) eine TMA

von 28,2 kg pro Tag. Trotz der *ad libitum* Fütterung lag die TMA in diesem Versuch deutlich darunter, bei nur 17,5 kg pro Tag. Damit können die hohen Energieabgabemengen über die Milch ($47,2 \pm 1,5$ kg/Tag) nicht ausreichend kompensiert werden.

Weiterhin zeigte sich vor der Kalbung eine hoch signifikante, positive Korrelation zwischen TMA und EBexp (Tabelle 7), die in der Frühlaktation nicht mehr nachweisbar war.

Die Gleichungen zur Schätzung der EB für trächtige und laktierende Kühe beinhalten die Variablen MEI, Erhaltungsbedarf (**ME_m**) sowie die Energiebedarfsmengen für die Leistungen Trächtigkeit bzw. Milchenergie (AGNEW et al., 2003; GRUBER et al., 2008). Die Variablen MEI, Energie für die Trächtigkeit (ap) und Milchenergie (pp) sind in allen Gleichungen nach GfE (2001), NRC (2001) und INRA (2007) sowie für die EBexp einheitlich verwendet worden (Formel 11 bis 18). Aus diesem Grund war an beiden Untersuchungszeitpunkten eine hohe Übereinstimmung zwischen EBest sowie EBexp zu erwarten. Jedoch gibt es signifikante Unterschiede zwischen der EBest und EBexp (Abbildung 15, Tabelle 5), die vor allem in der Frühlaktation besonders ausgeprägt sind (Delta von ap 33 MJ ME/Tag und pp 67 MJ ME/Tag). Das weist auf eine zu geringe Energieaufnahme und/oder einen zu hohen Energiebedarf hin. Die Ursache ist möglicherweise die Verwendung eines zu niedrigen Faktors, derzeit 0,488 bis 0,534 MJ ME, für die Berechnung des ME_m. Diese Vermutung wird durch andere Studien bestätigt (YAN et al., 1997a; YAN et al., 1997b; KEBREAB et al., 2003; GRUBER et al., 2008), die zeigen, dass die aus Respirationsversuchen ermittelten ME_m Werte für Milchkühe konstant höher lagen als die von verschiedenen Energiefutterbewertungssystemen geschätzten Werte. GRUBER et al. (2008) kalkulierten mit Daten aus Fütterungsbewertungssystemen verschiedener Länder einen Mittelwert von $0,507 \text{ MJ ME/kg LM}^{0,75}$, der den aktuellen Bedarf um etwa 22 % unterschätzt. In unserer Studie wurden mit kalorimetrischen Messdaten vier Wochen vor der Kalbung WP-Werte von $0,76 \pm 0,02 \text{ MJ ME/kg LM}^{0,75}$ und zwei Wochen nach der Kalbung WP-Werte von $1,02 \pm 0,02 \text{ MJ ME/kg LM}^{0,75}$ ermittelt. Obwohl Messungen in dieser Studie unter thermoneutralen Bedingungen und bei eingeschränkter Aktivität erfolgten, liegen die WP-Werte um 19 % und 59 % höher als die veröffentlichten Werte von AGNEW & YAN (2000), GRUBER et al. (2008) und SUSENBETH (2018), die im Bereich von 0,62 bis $0,65 \text{ MJ ME/kg LM}^{0,75}$ angegeben wurden. GRUBER et al. (2008) analysierten

Daten aus Fütterungsversuchen und diese zeigten signifikante Unterschiede der EB, LM-Veränderungen und Laktationsstadium zu den Regressionskoeffizienten für MEm, Milchenergieausgabe und Gewebemobilisation oder –zunahme. Der Regressionskoeffizient für MEm lag in der Früh-laktation über $1 \text{ MJ ME/kg}^{0,75}$ und stimmt damit fast mit dem in dieser Studie gemessenen WP-Wert überein.

Die Berechnung der EBexp beruht auf der kontinuierlich erfassten WP, berechnet aus 240 Datensätzen pro Tier und Tag. In der WP ist die freigesetzte Wärme durch den Grundumsatz, die thermischen Effekte durch Futteraufnahme, Bewegung, Thermoregulation, Gewebewachstum und Katabolismus sowie die Prozesse bezogen auf die Milchsynthese/-sekretion, subsummiert. In vorherigen Versuchen (AGNEW & YAN, 2000, JENTSCH et al., 2001; AGNEW et al., 2003) konnte gezeigt werden, dass die WP in der Laktation um etwa 26 % höher ist, als in der Trockensteherperiode. Dies bestätigte sich auch in diesem Versuch. So stieg die WP gegenüber der Trockensteherperiode in der Früh-laktation um $36 \pm 4 \%$. Dieser Anstieg resultierte aus einer erhöhtem WA ($182 \pm 27 \%$) und TMA ($64 \pm 7 \%$), einer höheren Stoffwechselaktivität des Pansenepithels (BHBA: $104 \pm 23 \%$), einem gesteigerten Abbau von Körperreserven, besonders von Körperfett (NEFA: $267 \pm 36 \%$), und den Prozessen der Milchsynthese und –sekretion (Tabelle 6). Eine höhere Blutversorgung der Viscera, hauptsächlich des Pansens und der Leber, sowie eine gesteigerte metabolische Rate dieser Organe tragen ebenfalls zu einer Erhöhung der WP in der Früh-laktation bei (JOHNSON et al., 1990; FREETLY et al., 2006). Die gemessene Bewegungsaktivität der Kühe in der Respirationskammer war ap und pp gleich, jedoch zeigte sich bei laktierenden Kühen eine tendenziell höhere motorischen Aktivität ($P = 0,06$). Gleichungen zur Vorhersage der EB berücksichtigen auch den Erhaltungsbedarf, bei dem die EB gleich Null gesetzt ist. Dieser Erhaltungsbedarf wird unter standardisierten Bedingungen mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt, die in Näherung den Grundumsatz-Bedingungen entsprechen (DERNO et al., 2005). Dazu werden die Kühe, die nicht tragend, nicht laktierend und ausgewachsen sind, auf Erhaltungsbedarfsniveau gefüttert (GfE, 2001). Daher wird in den Gleichungen lediglich der Energiebedarf zur Abdeckung der grundlegenden Organfunktionen wie Atmung, Blutkreislauf, Aktivitäten der Niere und Leber, Gehirnfunktion, Synthese und Metabolismus von Enzymen und Hormonen sowie die notwendigen Aufwendungen für die Zellerhaltung berücksichtigt (MILLIGAN et al., 1986). Bekanntermaßen ist der Grundumsatz bzw. Erhaltungsbedarf vom Alter sowie von Körpergröße, Körpermasse

und Körperzusammensetzung abhängig (OLDHAM & EMMANS, 1990; HOFFMANN, 1993; AGNEW & YAN, 2000; AGNEW et al., 2003; GRUBER et al., 2008). Ein höherer Körperproteingehalt (OLDHAM & EMMANS, 1990; AGNEW & YAN, 2000) und die Selektion auf ein größeres Körpervolumen sowie die gesteigerte *ad libitum* Futterraufnahme (HANSEN et al., 1999; HANSEN, 2000) sind begleitet von einer gesteigerten Körpergröße, LM und Aktivität der inneren Organe für Verdauung, Metabolismus und Blutkreislauf (JOHNSON et al., 1990; TAYLOR & MURRAY, 1991; REYNOLDS, 1996) und könnten somit zur Erhöhung des MEM bei Milchkühe beitragen (GRUBER et al., 2008). Die Effekte des Körpervolumens bzw. der Körpermasse sind bei großen Kühen mit höherer $LM^{0,75}$ stärker ausgeprägt, da diese mehr Futter zur Erhaltung benötigen (HANSEN, 2000) und somit die Differenz zwischen der benötigten und verbrauchten Energie immer größer wird. Dies gilt insbesondere, wenn diese Energie hauptsächlich für die Milchproduktion aufgewendet wird (GARCÍA et al., 2011). In Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen steht die von uns beobachtete hoch signifikante, negative Korrelation zwischen EBexp und der $LM^{0,75}$ pp (Tabelle 7). Die metabolische Aktivität der Organe, insbesondere Gastrointestinaltrakt, Milz und Leber, trägt vorwiegend zum $LM^{0,75}$ und deren relativer Erhöhung bei laktierenden Kühen bei. Ursache hierfür sind die Körpermasseverluste in Form von Muskel- und Fettgewebe (BÖRNER et al., 2013a; BÖRNER et al., 2013b; SCHÄFF et al., 2013). So konnten SCHÄFF et al. (2012) in der Früh-laktation vermehrt Aminosäuren im Blutplasma und eine erhöhte Proteinexpression in der Leber nachweisen. Darüber hinaus steigt die Masse der Leber und des Gastrointestinaltraktes kontinuierlich während der Laktation an (JOHNSON et al., 1990). Zusammen erklärt dies die hier gefundene, nur geringfügige Minderung der $LM^{0,75}$ von $4 \pm 1\%$ in der Früh-laktation, währenddessen der BCS deutlich stärker, um $13 \pm 4\%$, abgenommen hat. Bei Kühen hat die Milchproduktion für das Kalb einen natürlichen Vorrang, wofür die Körperreserven als wichtiger Energielieferant dienen – trotz einer bereits bestehenden, ausgeprägten NEB (GARCÍA et al., 2011). Die genetische Disposition für sehr hohe Milchleistung verstärkt damit die NEB und die vermehrte Mobilisation der Körperreserven (COFFEY et al., 2004; DRACKLEY et al., 2014). Der NEFA-Gehalt im Blutplasma, ECM und insbesondere der MilCHFettgehalt sind in der Früh-laktation dementsprechend negativ mit der EBexp korreliert (Tabelle 7). In verschiedenen Studien fanden sich bei Milchkühen erhöhte Raten der Protein- und vor allem der Fettmobilisation (TAMMINGA et al., 1997; HAMMON et al., 2009; SCHÄFF et al., 2013), die einen erhöhten MEM Bedarf bedingen.

Somit kann zusammengefasst werden, dass der generelle Energiebedarf in den Gleichungen unterschätzt wird. Der Energiebedarf für die Erzeugung der Milch ist höher, und damit wird auch mehr Körpergewebe abgebaut, als in den aktuellen Gleichungen angenommen. Eine negative Wechselwirkung zwischen EBexp und dem NEFA-Gehalt im Blutplasma zeigte sich bereits vor der Kalbung.

3.4 Zusammenfassung Kapitel A

Die EBest und die EBexp von Milchkühen der Rasse Deutsche Holstein unterscheiden sich signifikant. Die gängigen Schätzgleichungen unterschätzen den generellen Energiebedarf. Dies gilt sowohl für die Zeit vor der (4 Wochen) als auch nach der (2 Wochen) Kalbung. Das Delta der Abweichung ist in der Früh-laktation noch stärker ausgeprägt als bei den trockenstehenden, trächtigen Kühen. Aufgrund der gleichen MEI- und ECM-Formeln für die Berechnung der EBest und EBexp müssen die beobachteten Differenzen hauptsächlich im Zusammenhang mit höheren MEm-Werten, als bisher angenommen, entstehen. DMI und der NEFA-Gehalt im Plasma zeigen eine hohe Korrelation mit EBexp bei trockenstehenden, tragenden Kühen, währenddessen $LM^{0,75}$ und der Milchfettgehalt in der Früh-laktation mit EBexp korrelieren. In der Früh-laktation muss viel Energie für die Milchproduktion bereitgestellt und somit mehr Körperreserven bei unzureichender Energieaufnahme mobilisiert werden. Um eine umfassende Datenbasis aufzubauen, und so die Modelle und Gleichungen für die Schätzung des Energiebedarfs dieser Kühe optimieren und eventuell standardisieren zu können, bedarf es weiterer Versuche mit Kühen, die eine Milchleistung von über 10.000 kg aufweisen. Darüber hinaus sollten die beobachteten Differenzen zwischen EBexp und EBest bei der Interpretation anderer Versuchsdaten berücksichtigt werden. In vielen Studien wird die EBest verwendet (TAMMINGA et al., 1997; REIST et al., 2002; VAN KNEGSEL et al., 2007; GROSS et al., 2011), wodurch der tatsächliche Energiestatus überschätzt werden könnte.

4 Kapitel B – Untersuchungen von Stoffwechselbelastungen auf das autonome Nervensystem mithilfe der Herzfrequenzvariabilität

4.1 Literaturrecherche

4.1.1 Regulation und Messung der HRV

Die HRV ergibt sich aus der stetig unterschiedlichen momentanen HR (ESPERER, 1995). Sie beschreibt das wechselseitige Einwirken vom ANS, Hormonen und der autonomen Funktion des Herzens (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; MALIK, 2004). Je variabler die HR bei einem Organismus agieren kann, desto vitaler kann sich der Körper an unterschiedliche externe und interne Bedingungen anpassen (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; VON BORELL et al., 2007). Der chinesische Arzt Wang Shu-Ho hatte 180-270 n. Chr schon die Erkenntnis: „Wenn das Herz so regelmäßig wie das Klopfen eines Spechtes oder das Tröpfeln des Regens auf dem Dach wird, wird der Patient innerhalb von vier Tagen sterben“ (ELLER-BERNDL, 2010). Der Sinusknoten (*Nodus sinuatrialis*) ist der autonome, elektrische Taktgeber, der Schrittmacher, des Herzschlages und hat die Aufgabe des primären Reizgenerators, also des Herzschrittmachers, durch die höchste entstehende Entladungsfrequenz (HARMEYER, 2005). Die Eigenfrequenz des Sinusknotens liegt etwa bei 100 bpm. Sie wird durch Sympathikus und Parasympathikus des ANS sowie durch neuronale, humorale und weitere Steuerungsprozesse modifiziert (MALLIANI, 1995; VON BORELL et al., 2007). Der *Nervus Vagus*, nachfolgend auch Vagus genannt, ist der größte Nerv vom Parasympathikus und innerviert die meisten inneren Organe (VON BORELL et al., 2007). Die tatsächliche HR in Ruhe erreicht aufgrund einer dominierenden efferenten Vagusaktivität nur Werte von rund 60 bpm (VON BORELL et al., 2007). Der Parasympathikus kann dominanter, spezifischer und schneller auf die Herztätigkeit einwirken als der Sympathikus (HARMEYER, 2005) und hat damit die Möglichkeit von Herzschlag zu Herzschlag regulierend einzugreifen (MALLIANI, 1995).

Der Sympathikus erzeugt durch die Ausschüttung der Überträgerstoffe Noradrenalin, aus lokalen Nervenendigungen, und Adrenalin, aus dem Nebennierenmark (MAHNHARDT, 2015), eine

- Erhöhung der Herzschlagfrequenz,
- Beschleunigung der Reizüberleitung im AV-Knoten,
- Zunahme der Myokardkontraktilität (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996).

Die Regulation über Sympathikus und Vagus, wird auch als sympatho-vagale Balance bezeichnet (VON BORELL et al., 2007). Der kombinierte Einfluss vom ANS, arteriellen sowie kardiopulmonalen Baroreflexen und humoralen Modulatoren führt insgesamt zu einer unregelmäßigen Herzschlagfrequenz (ESPERER, 1995).

Der Herzrhythmus wird jedoch nicht nur durch Sympathikus und Parasympathikus moduliert, sondern noch von weiteren Regelkreisen beeinflusst, die auch auf die Sinusknotenaktivität sowie das ANS einwirken und somit für die Auswertung der HRV-Daten eine wichtige Rolle spielen (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; HOTTENTROTT, 2002; Abbildung 16). Zusätzlich erfolgt immer ein unmittelbarer Transfer der Reize zwischen ANS, Herz einerseits und übergeordneten Hirnzentren andererseits (HOTTENTROTT, 2002).

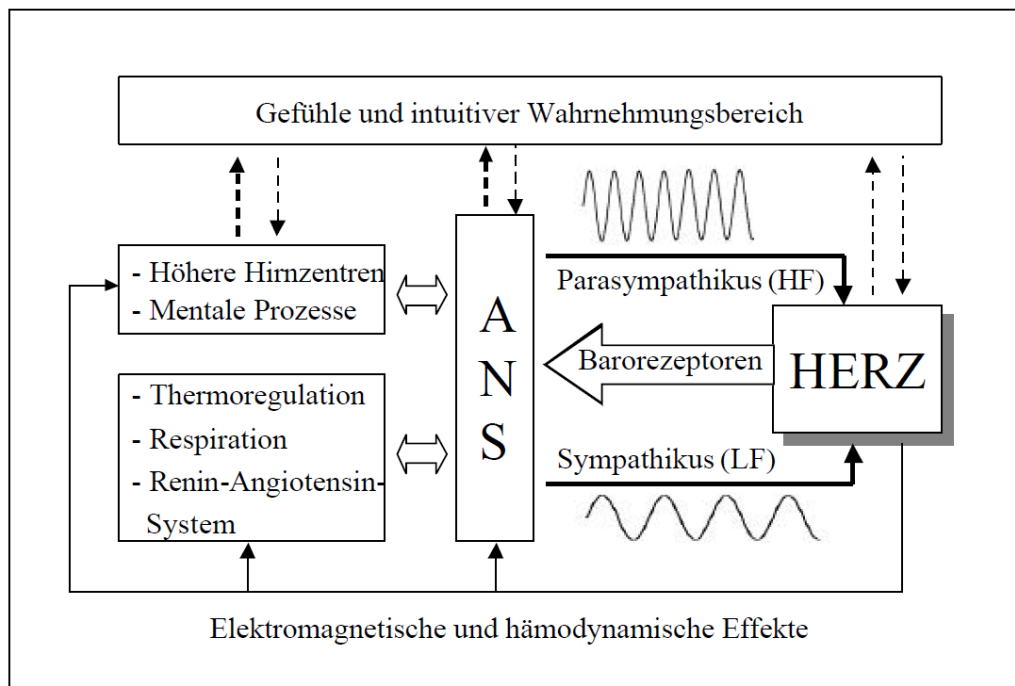


Abbildung 16: Modulation der HRV (HOTTENTROTT, 2002)

Mithilfe eines Elektrokardiogramms (EKG) können alle elektrischen Erregungszustände des Herzens aufgezeichnet und ausgewertet werden (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; ECKERT et al., 2002). Die einzelnen Ausschläge (Abbildung 17) werden mit folgenden Buchstaben und Bedeutungen erklärt:

- P-Welle = Depolarisation des Atriums,
- QRS-Komplex = Depolarisation des Ventrikels,
- T-Welle = Repolarisation des Ventrikels.
- RR-Intervall = Abstand von R-Zacke zu R-Zacke, entspricht dem Zeitabstand zweier Herzschläge

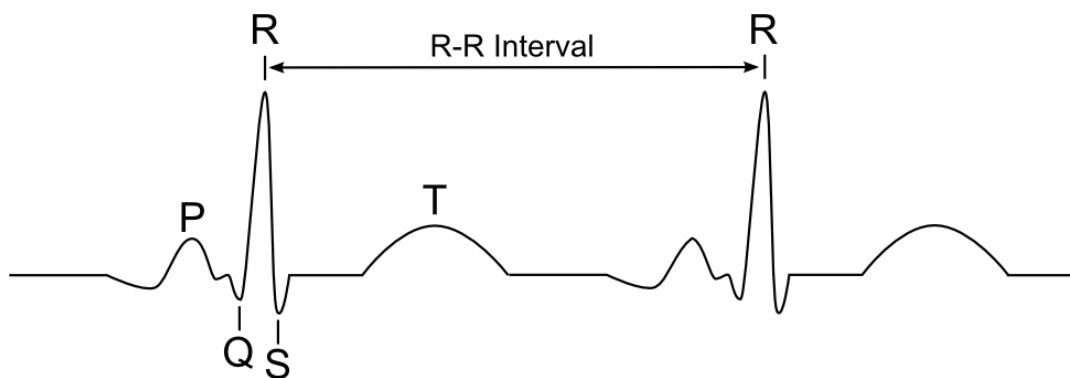


Abbildung 17: Grafische Darstellung im Elektrokardiogramm von zwei Herzschlägen (THOMPSON, 2010)

Die aktuellen telemetrischen Messsysteme, wie sie zum Beispiel von der Firma Polar in der Sportmedizin verwendet werden, erfassen nicht mehr das komplette EKG, sondern nur die Abstände von R-Zacke zu R-Zacke gemessen in Millisekunden (ms) (Abbildung 17).

Um den Status und die Funktion der zentralen Oszillatoren, der sympathischen und parasympathischen Efferenz, der humoralen Faktoren und des Sinusknotens zu beschreiben, kann die HRV mit unterschiedlichen mathematischen Modellen dargestellt werden (VON BORELL et al., 2007; BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP, 2008b). Die RR-Intervalle sind die Maßeinheit für die Beschreibung der Herzzyklen (MOHR et al., 2002). Ein RR-Intervall, gemessen in Millisekunden, steht für die Länge eines Herzzyklus. Lange Zeit wurde zur Messung der Aktivität des ANS die HR genutzt, aber viele Informationen gehen mit dieser Methode verloren (HOT-

TENTROTT, 2002). Es werden die Herzschläge pro Minute angegeben, womit die HR ein Durchschnittswert der Anzahl der Herzschläge ist. In welchen Abständen die Herzschläge nacheinander erfolgen, ist daraus nicht abzulesen. Folgendes Beispiel (Abbildung 18) verdeutlicht die unterschiedliche Aussagekraft der HR im Vergleich zur HRV. Die HRV, gemessen mit RR in Millisekunden, ist somit eine effektivere Methode zur Messung der Tätigkeit des ANS (MOHR et al, 2002; BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP, 2008b).

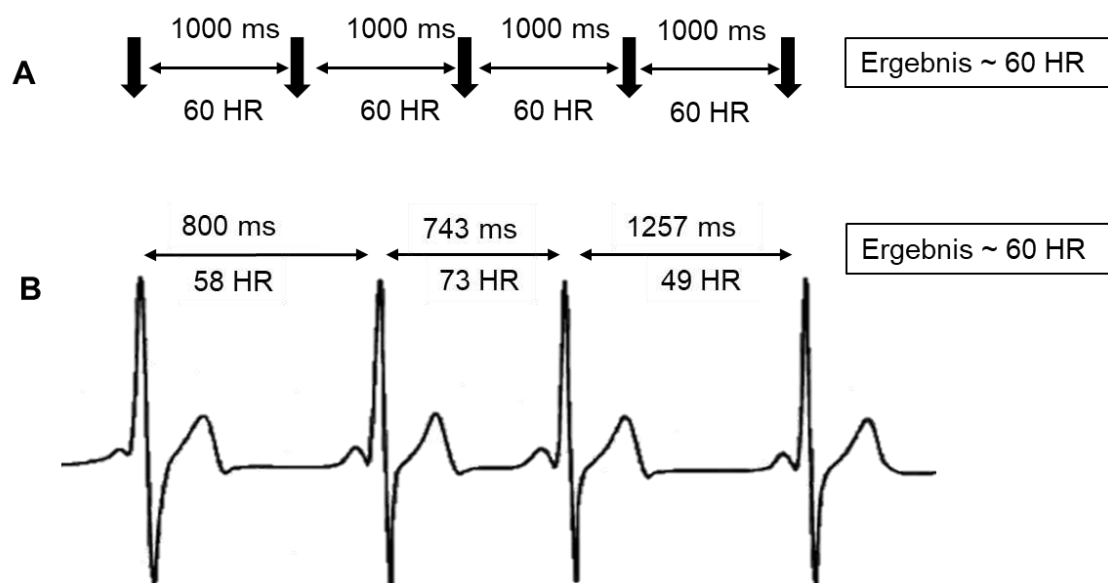


Abbildung 18: A = Darstellung einer theoretischen Möglichkeit der HR von 60 S/min wie in Abbildung B, wenn gleiche Abstände von R-Zacke zu R-Zacke bleiben. B = Darstellung eines EKG-Verlaufs mit unterschiedlichen Abständen von R-Zacke zu R-Zacke mit einer HR von 60 S/min (MAKIVIĆ et al., 2013)

Die HR und HRV verlaufen reziprok zueinander. Das heißt, wenn die HR durch eine erhöhte Belastung steigt, sinken Abstände und Variation der RR (Abbildung 19).

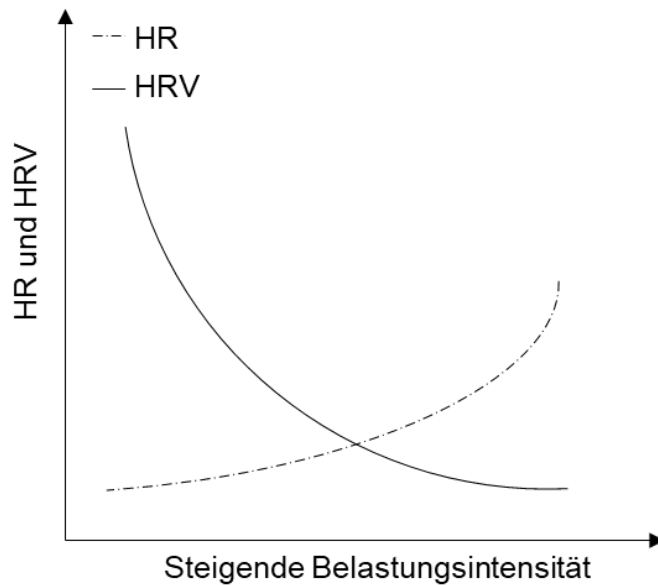


Abbildung 19: Unterschiedlicher Verlauf der HR und HRV mit steigender Belastungsintensität (modifiziert nach HOTTENROTT, 2002)

Diese unterschiedliche Abfolge steht für ein sehr komplexes System und beinhaltet äußerst bedeutende klinische Informationen (HOTTENTROTT, 2002). Mit zunehmendem Alter und bei Erkrankungen wird dieses System starrer und weniger variabel. Eine gesunde Komplexität ist nach ELLER-BERNDL (2010) wie folgt beschrieben:

- „nicht stationär,
- statistische Veränderungen im Verlauf der Zeit,
- nicht linear,
- Komponenten interagieren auf unerwartete Weise,
- multiskale Organisation,
- zeitliche Irreversibilität,
- Fluktuationen können fraktale Organisationen haben“.

4.1.2 Methodik zur Berechnung der HR- und HRV-Parameter

Die Anwendung unterschiedlicher mathematischer Methoden dient zur Analyse der HRV, um die Regulation der Herzaktivität u.a. durch die Balance zwischen Sympathikus und Parasympathikus zu beschreiben (MALIK, 2004; ELLER-BERNDL, 2010). Mithilfe der unterschiedlichen mathematischen Auswertungen können lineare und nicht-lineare Zusammenhänge ermittelt werden (MALIK, 2004). Für die lineare Auswertung

werden Zeit- und Frequenzbereichsparameter genutzt, um einen wiederkehrenden Zyklus oder lineare Korrelationen herauszufinden (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; MALIK, 2004). Die nichtlinearen Parameter sind zur übersichtlichen Darstellung des komplexen und strukturellen Verhaltens der HRV-Zeitverläufe geeignet (WEBBER & ZBILUT, 1994; MALIK, 2004).

4.1.2.1 Zeitbereichsanalyse

Die Zeitbereichsparameter werden mit statistischen und geometrischen Methoden anhand der zeitlichen Abfolge von Herzschlägen, auch RR-Intervalle genannt, ermittelt (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; ELLER-BERNDL, 2010). Die Abstände zwischen zwei Herzschlägen korrelieren mit der Herzschlagfrequenz, d.h. Herzschläge pro Minute (ELLER-BERNDL, 2010). Sinkt die HR werden die Abstände von R-Zacke zu R-Zacke (RR in bpm) länger (MALIK, 2004).

4.1.2.2 Frequenzbereichsanalyse

Für die Beschreibung der HRV im Frequenzbereich wird die Methode der Spektralanalyse angewendet (MALIK, 2004). Hierbei kann die Wechselwirkung von Sympathikus und Parasympathikus auf den Sinusknoten mathematisch berechnet und grafisch veranschaulicht werden (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; ELLER-BERNDL, 2010). Die Spektralanalyse erfolgt mit der nicht parametrischen, schnellen Fourier-Transformation (FFT = Fast Fourier Transformation) an der zuvor interpolierten, und damit zeitlich äquidistanten, RR-Datenreihe (BRÜGGEMANN et al., 1995). Mithilfe des Algorithmus kann die RR-Datenreihe in Frequenzanteile aufgeteilt und analysiert werden (BRÜGGEMANN et al., 1995). Im Humanbereich sind die Frequenzbereiche *ultra low frequency*, VLF, LF und HF mit den entsprechenden Referenzbereichen von der TASK FORCE ESC/NASPE (1996) festgelegt worden. Für Rinder wurden die Frequenzbereiche mit den Grenzen VLF 0,0033 bis 0,0133 Hz, LF 0,0133 bis 0,20 Hz und HF 0,20 bis 0,58 Hz durch VON BORELL et al. (2007) zusammengefasst.

4.1.2.3 Nichtlinearer Bereich mit RQA

Die HR unterliegt ständig dynamischen Anpassungsprozessen, die auch durch nicht lineare Zusammenhänge charakterisiert sind (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; MALIK, 2004). Die HR-Abfolge kann als ein dynamisches System beschrieben werden, das einem mathematischen Modell mit festgelegtem Zeitrahmen und deren Veränderungen

unterliegt (MALIK, 2004; MARWAN et al., 2007). Ein Teilgebiet der Theorie dynamischer Systeme ist die nichtlineare Dynamik, die nichtlineare Gleichungen, d.h. Differentialgleichungen, zur Betrachtung des Verhaltens im Phasenraum beinhaltet (MALIK, 2004; MARWAN et al., 2007). Die „Chaostheorie“ wird der nichtlinearen Dynamik und damit dynamischen Systemen zugeordnet (RAJENDRA et al., 2006). Sie befasst sich nicht mit zufälligen Ereignissen, sondern mit der Systematik von zeitlich deterministischen (festgelegten) Zusammenhängen in einem dynamischen System (RAJENDRA et al., 2006). Bei einer deterministisch chaotischen Dynamik kann ein Experiment auch mit unterschiedlicher Ausgangslage simuliert werden (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996). Aus diesem Grund ist die lineare und nichtlineare Analyse der HRV wichtig, um zufällige und deterministisch chaotische Zusammenhänge unterscheiden zu können. Diese Nichtlinearität kann zum Beispiel durch die Methode RQA nach WEBBER & ZBILUT (2007) untersucht werden (KANTERS et al., 1996). In *Recurrence Plots* (ECKMANN et al., 1987) der RQA können alle Einwirkungen von variierenden Faktoren in einem bestimmten Zeitraum veranschaulicht werden. Damit alle Faktoren in die Berechnung eingehen, wird vorher der N-dimensionale Raum festgelegt (MARWAN et al., 2007). Für die HRV wird von 10 Faktoren (z.B. hormonelle und elektrophysiologische Faktoren, ANS) ausgegangen, die für die unterschiedliche Abfolge der Herzschläge verantwortlich sind ($N = 10$) (VON BORELL, 2007). Es werden jeweils 10 Werte in einer Sequenz als Vektoren berechnet und als Punkt eingetragen (MARWAN et al., 2007). Diese Systematik erfolgt für die ganze Datensequenz (MARWAN et al., 2007). Die Differenz zwischen allen Vektoren wird jeweils als Zeitpunkt t ermittelt (WEBBER & ZBILUT, 2007). Aus diesem Grund ist eine Beschreibung der Beziehung zwischen allen Variablen möglich. Ein *Recurrence* Punkt ist das Delta zweier Vektoren. Er liegt innerhalb eines gewählten Radius, der stets kleinstmöglich festgelegt werden sollte (WEBBER & ZBILUT, 2007). Je größer der Radius gewählt wird, desto mehr Vektoren, die einen größeren Abstand und somit eine geringere Verbindung zueinander haben, sind in dem N-dimensionalen Raum (WEBBER & ZBILUT, 2007). Bei der grafischen Darstellung ist eine diagonale Linie zu erkennen, die durch das Delta von dem jeweils gleichen Vektor (= Null) entsteht (MARWAN et al., 2007). Des Weiteren deuten diagonale Linien auf eine deterministische Dynamik in der Datenreihe hin, vereinzelte Punkte dagegen auf eine zufällige Entstehung (MARWAN et al., 2007; WEBBER & ZBILUT, 2007). Die Änderung und Regulation von Faktoreinflüssen (Nichtstationarität), ist durch weiße Bereiche im *Recurrence Plot* zu erkennen (WEBBER & ZBI-

LUT, 1994). Mit dieser Methode kann die Ausprägung der deterministisch chaotischen Dynamik anhand der physiologischen Veränderungen (Nichtstationarität) autonom von der Länge der Datenreihe analysiert werden (MOHR et al., 2002).

4.1.3 Diagnostische Parameter der HR / HRV und die Interpretation

4.1.3.1 Parameter der Zeitbereichsanalyse

Nachfolgend sind neben HR und RR weitere Parameter genannt, die mit unterschiedlichen mathematischen Methoden aus der RR-Abfolge berechnet werden können und für diese Arbeit relevant sind (Tabelle 9).

Der Parameter **SDNN** (*standard deviation of all normal intervals*) beinhaltet die Standardabweichung aller RR über die gesamte Datenreihe und wird mit der Quadratwurzel der Stichprobenvarianz berechnet (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; ELLERBERNDL, 2010). SDNN kann für die Kurzzeit-HRV herangezogen werden und gibt einen Überblick über die Gesamtvariabilität der Herzschlagfolge (SAMMITO & BÖCKELMANN, 2015). Es gibt keinen eindeutigen Zusammenhang mit Komponenten des ANS (SAMMITO & BÖCKELMANN, 2015). In einigen Studien ist eine Verringerung der SDNN bei starker Belastung untersucht worden und damit eine Verringerung der HRV (MOHR et al., 2002; HOTTENTROTT et al., 2006; SAMMITO & BÖCKELMANN, 2015).

Die **RMSSD** (*root mean square of successive differences*) ist die Quadratwurzel des Mittelwertes der Summe aller quadrierten Differenzen zwischen benachbarten RR (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; MAHNHARDT, 2015). RMSSD ist ein geeigneter Indikator für die Kurzzeitvariabilität, womit kurzfristige Schwankungen erfasst werden können (VON BORELL et al., 2007; SAMMITO & BÖCKELMANN, 2015). Weiterhin wird dieser Parameter dem Parasympathikus zugeschrieben, d.h. die Aktivität des Vagus spiegelt sich in diesem Marker relativ deutlich wieder (ESPERER, 1995; BOISSY et al., 2007; SAMMITO & BÖCKELMANN, 2015). Bei einer Belastung des Körpers zeigt sich eine Reduktion der RMSSD (MOHR et al., 2002).

4.1.3.2 Parameter der Frequenzbereichsanalyse

Die Frequenzbereichsparameter werden in unterschiedlichen Einheiten angegeben. Als Peak Frequenz in Hertz (Hz), als absolute Power in Millisekunden zum Quadrat (ms^2),

als relative Power in Prozent (%) oder als normalisierte Power (n.u.) (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996). Durch eine Normalisierung der Werte können die interindividuellen Unterschiede verringert werden (VON BORELL et al., 2007). Die Unterteilung der frequenzbezogenen Parameter erfolgt anhand des Leistungsdichtespektrums, die von der TASK FORCE ESC/NASPE (1996) für Menschen festgelegt worden ist. Diese weichen von den Empfehlungen für die Grenzbereiche für Rinder ab, die aufgrund des Einflusses der Respiratorischen Sinusarrhythmie eingeteilt werden (VON BORELL et al., 2007; Tabelle 8).

Tabelle 8: Referenzbereiche der Frequenzbereichsparameter

Parameter	Leistungsdichtespektrum (Hz) Mensch ¹	Leistungsdichtespektrum (Hz) Rind ^{2,3}	Auswertzeit
VLf	0,003-0,04	0,0033-0,0133	24 Stunden und Kurzzeitaufnahmen
LF	0,04-0,15	0,0133-0,2	24 Stunden und Kurzzeitaufnahmen
HF	0,15-0,4	0,2-0,58	24 Stunden und Kurzzeitaufnahmen

¹ = TASK FORCE ESC/NASPE (1996)

² = VON BORELL et al. (2007)

³ = MOHR (2010)

Der LF wird zur Beschreibung von beiden Teilen des ANS angewendet (AKSELROD et al., 1981; TASK FORCE ESC/NASPE, 1996). Jedoch wird von einigen Autoren LF (n.u.) lediglich als Indikator für die Veränderung des Sympathikus angegeben (PAGANI et al., 1986; MALLIANI et al., 1991; MONTANO et al., 1994). Eine Erklärung dafür liegt in der uneinheitlichen Herangehensweise in Bezug auf Einheiten, mathematische und versuchsbedingte Verfahren sowie auf weitere physiologische Einflüsse (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996; HOULE & BILLMAN, 1999; KUWAHARA et al., 1999).

Der HF spiegelt in diesem Frequenzbereich ein Maß der parasympathischen Aktivität wider (AKSELROD et al., 1981; MALLIANI et al., 1991; KUWAHARA et al., 1999). Weiterhin hat die Respiratorische Sinusarrhythmie je nach Atemfrequenz der Tierarten einen Einfluss auf den Vagustonus (PAGANI et al., 1986; SLANGEN et al., 1997; VON BORELL et al., 2007). Der HF steht in enger Korrelation mit dem Parameter RMSSD (PARDO et al., 1996). Höchstleistungen, mentaler Stress oder physische Akti-

vität gehen mit einer Verringerung der HF einher (MALLIANI et al., 1991; MOHR et al., 2002; VON BORELL et al., 2007). Bei Rindern konnten hohe HF-Werte und damit eine gesteigerte Vagusaktivität bei gefasteten Ochsen (CLABOUGH & SWANSON, 1989) und bei der Erkrankung *Bovine spongiforme Enzephalopathie* (BSE; LITTLE et al., 1996; POMFRETT et al., 2004;) festgestellt werden. Eine verringerte Vagusaktivität und damit niedrigere HF-Werte finden sich dagegen bei klinisch erkrankten Kälbern (MOHR et al., 2002).

Das Verhältnis aus LF (ms^2) zu HF (ms^2) wird als Parameter **LF/HF** für die sympatho-vagale Balance verwendet. Dieser dient dazu, Veränderungen außerhalb des physiologischen Gleichgewichts zwischen Sympathikus und Parasympathikus zu ermitteln (MALLIANI et al., 1994; MOHR et al., 2002; VON BORELL et al., 2007). Durch physische Belastung beispielsweise kann durch eine Verschiebung des sympatho-vagalen Gleichgewichts die Aktivität des Sympathikus erhöht werden (MAHNHARDT, 2015). Damit steigt laut älteren Literaturquellen der LF-Wert an und der HF- sowie TP-Wert sinken (PAGANI et al., 1986; YAMAMOTO et al., 1991; NAKUMARA et al., 1993). Neuere Studien deuten auf eine größere HF-Power relativ gesehen zur LF-Power in der Phase des Wechsels zur anaeroben Energiebereitstellung hin (HOTTENROTT & HOOS, 2009). Diese Erkenntnisse sind vor allem methodisch begründet. Die HF ist stark beeinflusst durch die Respiratorische Sinusarrhythmie und bei starker Belastung nehmen die Atmung sowie die HF stark zu (VON BORELL et al., 2007). Der Spektralbereich für die HF wurde dadurch auf 1 Hz erweitert. Bei intensiver Belastung wurden auch höhere HF-Werte festgestellt (HOTTENROTT & HOOS, 2009). Daher ist bei starker physischer Belastung und hoher Respiratorischen Rate die Aussagekraft der Spektralparameter zur sympatho-vagalen Balance fragwürdig (HOTTENROTT & HOOS, 2009). Bei gesunden Spezies ohne physische Belastung und verstärkter Atmung befindet sich die sympatho-vagale Balance im LF/HF-Bereich von 0,5 bis 1. Werte über 1 zeigen eine ausgeprägte Sympathikusdominanz an (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996).

4.1.3.3 Nichtlineare-Parameter

Die Verwendung von nichtlinearen Parametern ist vor allem bei einer plötzlichen physischen Belastung des Körpers geeignet, um die Komplexität und den Determinismus der RR-Intervallschwankungen zu interpretieren (NAKAMURA et al., 1993; ESPERER,

2006; KOVÁCS et al., 2015). Zur quantitativen Ermittlung der nichtlinearen Parameter ist die RQA nach WEBBER & ZBILUT (1994) eine vorwiegend angewendete Methode. Die grafische Darstellung wird als *Recurrence Plot* bezeichnet und dient der qualitativen Beurteilung (ECKMANN et al., 1987). Nachfolgend sind die für den Ergebnisteil relevanten nichtlinearen Parameter erläutert.

Die *Recurrence rate* (**REC**) spiegelt den Anteil an *Recurrence* Punkten, d.h. den Prozentsatz der Wiederholungspunkte im N-dimensionalen Raum wider (ESPERER, 2006). Dementsprechend ist in einem *Recurrence Plot* zu sehen, wie eng die Vektoren nebeneinander im N-dimensionalen Raum liegen (ESPERER, 2006). Bei einer deterministischen Dynamik kann anhand vieler Wiederholungspunkte auf den Diagonallinien eine höhere REC ermittelt werden (ESPERER, 2006; WEBBER & ZBILUT, 2007).

Der berechnete Parameter *Determinism* (**DET**) erfasst im *Recurrence Plot* prozentual die Anzahl Wiederholungspunkte auf den diagonalen Linien und ist ein Maß für die Determiniertheit (WEBBER & ZBILUT, 2007). Diese Linien entstehen durch eine Aneinanderreihung von Punkten ohne einen leeren Raum (ESPERER, 2006). Damit deutet ein größerer DET-Wert auf eine mehr geordnete (determinierte) und weniger zufällig entstandene Struktur hin (MOHR et al., 2002; WEBBER & ZBILUT, 2007). Dadurch fokussiert das System stark auf einen Einfluss und verliert an Komplexität bzw. Variabilität der HR. In der Studie von MOHR et al. (2002) wird vermutet, dass der Parameter quantitative Änderungen von Stressbelastungen anzeigt.

Der Parameter **LMAX** spiegelt das längste, diagonale Linienelement im *Recurrence Plot* wider. LMAX ist eine Stabilitätsgröße der Zeitreihe (ESPERER, 2006; WEBBER & ZBILUT, 2007) und ein putativer Marker für qualitativ unterschiedliche Stresslevel (MOHR et al., 2002).

Die *Shannon entropy* (**ShanEn**) ergibt sich aus der Anzahl von unterschiedlichen Längen der Linienelemente in einem *Recurrence Plot*, die in einem Histogramm (x-Achse: Linienlänge; y-Achse: Anzahl der Linien) dargestellt und anhand der Varianz als Entropy-Wert berechnet werden (WEBBER & ZBILUT, 2007). Die ShanEn wird in der Literatur als Komplexitätsgröße beschrieben. Bei einer hohen ShanEn nimmt die Komplexität der deterministischen Dynamik zu (ESPERER, 2006; WEBBER & ZBILUT, 2007).

Tabelle 9: Parameter des Zeitbereichs, Frequenzbereichs und im nichtlinearen Bereich (modifiziert nach VON BORELL et al., 2007)

Analyse	Parameter (Einheit)	Definition	Physiologische Bedeutung
Zeitbereich	HR (S/min)	Herzfrequenz	gemeinsame Aktivität von Sympathikus und Vagus
	RR (ms)	Abstände von Herzschlag zu Herzschlag	gemeinsame Aktivität von Sympathikus und Vagus
	SDNN (ms)	Standardabweichung der RR	gemeinsame Aktivität von Sympathikus und Vagus
	RMSSD (ms)	Wurzel des Mittelwerts der quadrierten Differenzen aufeinander folgender RR	Aktivität des Vagus
Frequenzbereich	HF (n.u.)	Normalisierte Einheit des hochfrequenten Frequenzbereich (0,2 bis 0,58 HZ)	Aktivität des Vagus
	LF (n.u.)	Normalisierte Einheit des niederfrequenten Frequenzbereich (0,0133 bis 0,2 HZ)	gemeinsame Aktivität von Sympathikus und Vagus, höherer Anteil des Sympathikus
	LF/HF	Verhältnis von LF zu HF	Sympatho-vagale Balance
Nichtlinearer Bereich	REC (%)	Prozentualer Anteil von <i>Recurrence</i> Punkten im <i>Plot</i> = Vektor-Wiederholung im multidimensionalen Raum	Flexibilität des Systems (quantitative Aussage)
	DET (%)	Prozentualer Anteil von <i>Recurrence</i> Punkten im <i>Plot</i> = Bildung einer aufwärts gerichteten, diagonalen Linie	Flexibilität des Systems (qualitative Aussage)
	LMAX	Längstes diagonales Liniensegment aufeinander folgender <i>Recurrence</i> Punkte im <i>Plot</i>	Anteil von Chaos bzw. Zufall im System
	ShanEn	Berechnung aus deterministischen Liniensegmentlängen in einem Histogramm	Komplexitätsgröße

4.1.4 Einfluss des Energiestatus auf Parameter des Blutes und ANS

Jeder Organismus ist bestrebt, seinen Energiestoffwechsel und somit auch das Körpergewicht im physiologischen Gleichgewicht zu behalten (INGVARTSEN, 2006). Mit Hilfe einiger Metaboliten, wie NEFA, BHBA und Glukose, und Hormonen, wie Leptin

und Insulin, im Blut kann der Organismus die EB regulieren (KOKKONEN et al., 2005; INGVARTSEN, 2006). Der Hauptregulator für die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase wie auch der kardiovaskulären Regulation ist der Hypothalamus (STAPLES et al. 1990; MAHNHARDT, 2015). Das Fettgewebe nimmt bei der Informationsvermittlung an den Hypothalamus einen hohen Stellenwert ein (INGVARTSEN & ANDRESEN, 2000). Es wird als endokrine Drüse angesehen. Es ist mit vielen Mitochondrien ausgestattet und ein Syntheseort von Glykogen und Fetten. Das Fettgewebe kommuniziert direkt mit verschiedenen Blutbestandteilen; zum ANS besteht eine Erregungsleitung (INGVARTSEN & ANDRESEN, 2000). Am Intermediärstoffwechsel ist es ebenfalls beteiligt. Durch die Sekretion unterschiedlicher Hormone, Zytokine usw. beeinflusst es die Regulation von Appetit und Sättigung sowie die Insulinsensitivität. Eines der wichtigsten Adipokine ist das Leptin (BLOCK et al., 2001; KOKKONEN et al., 2005). Anhand der Leptinkonzentration wird durch die Verbindung zum ZNS die Futteraufnahme und der Energieverbrauch gesteuert (CHILLIARD et al., 2001; BLOCK et al., 2001; KOKKONEN et al., 2005) und so der Blutzuckerspiegel beeinflusst. Durch diesen wiederum wird die Produktion von Hormonen reguliert. So wird durch Insulin die Lipogenese begünstigt, durch Glukagon die Lipolyse (INGVARTSEN, 2006). Ebenso haben Adrenalin, Noradrenalin und Kortisol eine lipolytische Wirkung und wirken gleichzeitig auch stimulierend auf das ANS (INGVARTSEN & ANDERSEN, 2000; INGVARTSEN, 2006). Durch die Einwirkung auf die Bildung aller Komponenten des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems beeinflusst das Fettgewebe auch den Blutdruck (EHRHART-BORNSTEIN et al., 2003). Somit haben große Mengen an Fettdepots einen starken Einfluss auf den Hormonhaushalt. Dies wird durch die stetig steigende Konzentration an Katecholaminen, wie Adrenalin und Noradrenalin, die mit einer starken Aktivität des Sympathikus einhergeht, bei steigender Fettdepotmenge bestätigt (KOKKONEN et al., 2005; INGVARTSEN, 2006). Bei übermäßiger Fetteinlagerung, wie bei Adipositas der Fall ist, ist trotz der höheren Sympathikusaktivität der Stoffwechsel weniger aktiviert. Analog zeigt sich bei überkonditionierten Kühen, die nach der Kalbung enorme Mengen an Fett mobilisieren, eine dadurch gehemmte Futteraufnahme (INGVARTSEN & ANDERSEN, 2000; WEBER et al., 2013). Der NEFA-Gehalt im Blut übersteigt nach der Kalbung deutlich den Referenzwert. Die obere Grenze des Referenzbereichs liegt nach FÜRLI (2005) bei 620 $\mu\text{mol/l}$. Je ausgeprägter eine NEB ist, desto höhere Gehalte an NEFA sind im Blut zu finden (REIST et al., 2002). Daher ist der NEFA-Gehalt im Blut ein geeigneter Marker für den Energiestoffwechsel

(FÜRL, 2005). Im Blut zirkulieren NEFA an Serumalbumin gebunden. Die Oxidation in der Leber setzt Energie frei, die für die Milchfettsynthese im Euter gebraucht wird. Ein Teil der langkettigen NEFA gelangt direkt in das Milchfett (DRACKLEY, 2002; STÜRMER, 2009). In Energiemangelsituationen im peripartalen Zeitraum spielen die NEFA eine wichtige Rolle für die Energiebereitstellung. Auch der Gehalt an BHBA im Blut erhöht sich durch die Fettdepotmobilisation (DRACKLEY, 2002; STÜRMER, 2009; WEBER et al., 2013). BHBA ist ein guter Marker für Störungen im Energiestoffwechsel (FÜRL, 2005), was durch eine Korrelation mit der NEB bestätigt wird (REIST et al., 2002). Bei überkonditionierten Tieren wurden schon vor der Kalbung höhere BHBA-Werte im Blut in Verbindung mit einer geringeren Futteraufnahme nachgewiesen (GRUMMER, 1993; WEBER et al., 2013). Der Referenzbereich für Rinder liegt zwischen 0,34 mmol/l und 0,62 mmol/l (FÜRL, 2005).

4.1.5 Einfluss einer Stoffwechselbelastung auf Parameter der HRV

Aufgrund der Verbindung zwischen dem ANS und der Regulation des Energiestoffwechsels spiegelt sich eine Belastung des Energiestoffwechsels auch in den Parametern der HRV wieder, die ebenfalls durch das ANS im Hypothalamus reguliert werden (MOHR et al., 2002; LANGBEIN et al., 2004; HAGEN et al., 2005; KOVÁCS et al., 2015). Eine Stoffwechselbelastung steht in Verbindung mit Stress (VON BORELL et al., 2007). Dieser wird als eine unspezifische Antwort des Organismus auf Herausforderungen der Umwelt beschrieben (SELYE, 1936; MAHNHARDT, 2015). Die Aktivierung einer Stressreaktion, positiv oder negativ, ist äußerst wichtig, damit der Körper sich je nach der Ausprägung, d.h. Dauer und Intensität, kurzfristig oder längerfristig darauf einstellen kann (TUCHSCHERER & MANTEUFFEL, 2000; VON BORELL et al., 2007). Bei kurzfristigem, akutem Stress befindet sich der Körper in einigen Parametern nicht mehr im Gleichgewicht. Nach Abklingen der akuten Stressphase regulieren sich diese zurück auf den Sollwert (TUCHSCHERER & MANTEUFFEL, 2000). Chronischer Stress hingegen sorgt für ein dauerhaftes Ungleichgewicht von bestimmten Parametern, was chronische Erkrankungen zur Folge haben kann (TUCHSCHERER & MANTEUFFEL, 2000; MOHR et al., 2002). Ein hoher Vagus-Tonus geht einher mit einer hohen HRV, die eine gute regulatorische Flexibilität und damit Anpassungsfähigkeit des Organismus widerspiegelt (PORGES, 1995; VON BORELL et al., 2007; MAHNHARDT, 2015). HRV-Parameter wie RMSSD und HF, die als Indikatoren des

der Vagusaktivität zählen, können als quantifizierbarer Parameter für das „Wohlergehen“ eingesetzt werden (VON BORELL et al., 2007; MAHNHARDT, 2015). Der Vagus-Tonus sollte nicht über einen längeren Zeitraum verringert sein (PORGES, 1995). Ein längerfristig verringerter Vagus-Tonus deutet auf chronischen Stress hin, wodurch die sympatho-vagale Balance nicht nur kurzfristig, wie für lebenswichtige Anpassungsprozesse wichtig, sondern längerfristig verschoben ist (VON BORELL et al., 2007; KOVÁCS et al., 2015). Dauerhafter Stress führt zu einer unaufhörlichen Sympathikusaktivität in der Widerstandsphase, die anschließend zu einer totalen Erschöpfung durch dauerhaften Verbrauch und Fehlregulationen von Hormonen führt (PORGES, 1995; MOHR et al., 2002). Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) ist bei Stress angeregt und beeinflusst das ANS und die Herzaktivität (MORMEDE et al., 2007; KOVÁCS et al., 2015; MAHNHARDT, 2015). In einer Stresssituation sorgt die HPA-Achse für eine schnelle Aktivierung der Energiebereitstellung (MORMEDE et al., 2007). Innerhalb von 10 Minuten ist der Gehalt an Kortikosteroid angehoben und sinkt erst nach teilweise mehr als einer Stunde wieder ab (MORMEDE et al., 2007). Bei dauerhaftem Stress wird der Kortisolgehalt im Blutplasma nicht aufrecht gehalten. (MORMEDE et al., 2007). Damit ist anhand des Kortisolgehaltes im Blut kein chronischer Stress erkennbar (MORMEDE et al., 2007). Die sympathoadrenal-medulläre-Achse (SAM-Achse) wird ebenfalls in einer Stresssituation aktiviert (KANITZ et al., 1999). Das erfolgt durch den gesteigerten Sympathikus, der den Hirnstamm, den paraventriculären Nukleus des Hypothalamus und das limbische System durch die Produktion von Adrenalin aus den Nebennieren und Noradrenalin aus den sympathischen Nervenenden anregt (KANITZ et al., 1999; MAHNHARDT, 2015). Durch diese beiden Achsen ist das ANS eng mit dem Immunsystem verbunden (KANITZ et al., 2002; KANITZ et al., 1999). Zudem zählt Kortisol zu den entzündungshemmenden und immunsuppressiven Hormonen und die Nervenfasern des ANS sind auch in den immunogen relevanten Organen, insbesondere Milz, Knochenmark und Lymphknoten weit verbreitet (TUCHSCHERER & MANTEUFFEL, 2000).

4.2 Ergebnisse Kapitel B

4.2.1 Antwort der HR und HRV Parameter auf einen zehnstündigen Futterentzug und ein nachfolgendes *Refeeding*

In Tabelle 10 sind die Effekte auf die HRV-Parameter nach einem zehnstündigen Futterentzug (P2) und dem anschließenden *Refeeding* (P3) zusammengefasst dargestellt. Der Mittelwert von HR und RR lag bei 72 ± 2 Schlägen/min beziehungsweise 844 ± 19 ms in der Kontrollperiode (P1, *ad libitum* Fütterung). Die HR weist eine signifikante Reduktion (15 ± 2 %) und die RR eine signifikante Steigung (18 ± 3 %) in P2 im Vergleich zu P1 auf. In P3 sinken die Werte von HR und RR wieder auf das Niveau von P1 (Tabelle 10). In allen Versuchsperioden korrelierten HR und WP (P1: $r = 0,58$, $p = 0,08$; P2: $r = 0,78$, $p = 0,007$; P3: $r = 0,72$, $p = 0,02$). Die Werte von LMAX waren während der *Refeeding*-Periode (313 ± 29) im Vergleich zu P2 (236 ± 17) signifikant höher.

Tabelle 10: Berechnete Parameter der HRV unter definierten Bedingungen; P1 = *ad libitum* Fütterung; P2 = zehnstündiger Futterentzugs; P3 = vierzehnstündiges *Refeeding* mit *ad libitum* Fütterung

	Parameter	Periode	LSM	SE	Min	Max
Zeitbereichsparameter	HR [S/m]	P1	71,7 ^a	1,5	59,3	80,9
		P2	60,9 ^b	1,6	52,1	68,5
		P3	72,7 ^a	1,4	62,2	78,9
	RR [ms]	P1	844,0 ^a	19,0	744,0	1014,0
		P2	993,0 ^b	26,0	878,0	1154,0
		P3	832,0 ^a	17,0	762,0	966,0
	RMSSD [ms]	P1	12,8	2,2	4,9	25,7
		P2	16,5	2,0	6,6	25,4
		P3	12,4	2,1	5,2	22,8
	SDNN [ms]	P1	30,5	3,0	20,4	53,8
		P2	41,9	4,6	23,2	65,1
		P3	37,8	3,7	23,6	62,4
Frequenzbereichsparameter	LF [n.u.]	P1	90,9	2,6	67,0	98,9
		P2	89,2	2,0	77,0	99,3
		P3	92,4	2,5	76,2	99,5
	HF [n.u.]	P1	9,1	2,6	1,1	33,0
		P2	10,8	2,0	0,7	23,0
		P3	7,6	2,5	0,5	23,8
	LF/HF	P1	31,7	10,3	2,1	98,1
		P2	34,8	15,4	3,5	152,0
		P3	44,8	20,0	3,4	208,0
Nichtlineare Parameter	LMAX	P1	277,0 ^{ab}	26,0	41,0	394,0
		P2	236,0 ^a	17,0	160,0	304,0
		P3	313,0 ^b	29,0	68,0	384,0
	REC %	P1	46,5	3,4	20,0	57,7
		P2	51,0	1,9	40,0	66,3
		P3	52,1	2,8	39,3	62,5
	DET %	P1	99,3	0,4	95,9	99,9
		P2	99,4	0,2	97,5	99,9
		P3	99,5	0,2	97,4	99,9
	ShanEn	P1	3,7	0,1	2,6	4,2
		P2	3,8	0,1	3,4	4,2
		P3	3,8	0,1	3,2	4,4

P1 = Kontrolle (*ad libitum* Fütterung), P2 = Fasten und P3 = *Refeeding* (*ad libitum* Fütterung)

Min = Minimalwert; Max = Maximalwert; Daten angegeben als LS Means ± Standardfehler; n = 10

^{a, b, c} = Signifikante Unterschiede zwischen den Perioden (P < 0,05)

4.2.2 Charakterisierung der Reaktion des Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus der Kühe

Die zugehörigen Parameter zum Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus der Kühe sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Folgende Parameter zeigen eine signifikante Ver-

änderung durch den zehnstündigen Futterentzug: WP, EBexp, CO₂(ferm), NEFA und Aktivität. Die EBexp war bereits während der *ad libitum* Fütterung in P1 negativ und sank erwartungsgemäß weiter deutlich ab. In der *Refeeding*-Periode liegen die Werte im positiven Bereich und diese Veränderung ist auch signifikant zur Periode des Futterentzugs, P2. Dieser Verlauf geht auch einher mit der Reduktion von WP ($18 \pm 1 \%$, $P < 0,05$), Aktivität ($33 \pm 3 \%$, $P < 0,05$), SLQ ($40 \pm 7 \%$, $P < 0,05$) und Produktion CO₂(ferm) ($41 \pm 2\%$, $P < 0,05$) in P2 und einer Rückkehr zu den Ausgangswerten in der Phase P3 mit einer *ad libitum* Fütterung. Der NEFA-Gehalt im Plasma erhöhte sich in P2 signifikant um das 1,8-fache ($P < 0,05$) und sank in P3 wieder auf das Ausgangsniveau von P1 ab. Die TMA stieg um 48 % von Phase P1 zu Phase P3 an. Die KT der Kühe war in allen Perioden vergleichbar und lag im Durchschnitt bei 38,4 °C. Die Konzentration von Kortisol stieg numerisch zur Periode 2 und 3 jeweils an. Dies war jedoch statistisch nicht abzusichern.

Tabelle 11: Reaktionen auf einen zehnstündigen Futterentzug (P2) und dem vierzehnstündigen *Refeeding* (P3) der Parameter, die den Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus beschreiben.

Parameter	Einheit	Periode	LSM	SE	Min	Max
KT	°C	P1	38,42	0,09	38,00	39,16
		P2	38,46	0,06	38,10	39,60
		P3	38,39	0,09	38,10	39,10
Kortisol	nM/l	P1	5,54	0,30	3,98	9,77
		P2	5,67	0,45	3,56	17,64
		P3	6,36	0,78	1,56	9,33
Kortisol Peak	nM/l	Ende P2	5,99	0,81	3,52	18,42
WP	KJ/kg ^{0,75} /Tag	P1	750,56 ^a	48,09	551,17	1177,07
		P2	620,58 ^b	39,81	463,72	1075,35
		P3	765,12 ^a	47,43	566,30	1207,29
EBexp	MJ ME/Tag	P1	-22,78 ^a	45,46	-1060,40	186,68
		P2	-615,20 ^b	41,52	-2292,54	-462,30
		P3	339,72 ^c	83,30	-382,24	851,28

Parameter	Einheit	Periode	LSM	SE	Min	Max
TMA	kg/h	P1	0,44 ^a	0,04	0,30	1,40
		P2				
		P3	0,65 ^b	0,06	0,49	1,33
WA	l/Tag	P1	25,95 ^a	3,82	12,00	99,00
		P2	3,98 ^b	1,17	1,00	31,00
		P3	24,07 ^a	3,21	14,00	87,00
CO ₂ (ferm)	l/h	P1	21,87 ^a	1,54	12,59	38,01
		P2	12,65 ^b	0,89	9,06	20,30
		P3	22,27 ^a	1,28	15,05	40,00
Aktivität	Anzahl/h	P1	10818,00 ^a	1342,00	4474,00	21034,00
		P2	7065,00 ^b	833,00	2122,00	15803,00
		P3	11583,00 ^a	1957,00	3468,00	21359,00
SLQ		P1	1,60 ^a	0,23	0,55	3,36
		P2	0,91 ^b	0,18	0,22	1,60
		P3	1,87 ^a	0,40	0,75	4,79
NEFA	μmol/l	P1	176,37 ^a	37,27	72,17	864,67
		P2	328,00 ^b	31,08	144,94	1724,00
		P3	169,65 ^a	33,52	67,2	1309,00
BHBA	mmol/l	P1	0,40	0,03	0,26	2,82
		P2	0,37	0,03	0,24	2,24
		P3	0,43	0,05	0,24	2,29

P1 = Kontrolle (*ad libitum* Fütterung), P2 = Fasten und P3 = *Refeeding* (*ad libitum* Fütterung)

Min = Minimalwert; Max = Maximalwert; Daten angegeben als LS Means ± Standardfehler; n = 10

^a, ^b, ^c = Signifikante Unterschiede zwischen den Perioden (P < 0,05)

4.2.3 Analyse der individuellen Reaktionen der Kühe bei den HRV-Parametern bei Futterentzug

Reaktionen auf einen zehnstündigen Futterentzug (P2) und dem vierzehnstündigen *Refeeding* (P3) der Parameter, die den Energie-, Stoffwechsel- und Verhaltensstatus beschreiben (Tabelle 11) auf. Bei der Auswertung des Frequenzbereichsparameters (HF,

LF, LF/HF) für jede einzelne Kuh kristallisierten sich zwei Gruppen mit unterschiedlichen Reaktionen auf den Futterentzug ($\Delta P2-P1$) heraus. In Abbildung 20 ist die unterschiedliche Reaktion beim Parameter HF, der als Indikator für die Vagusregulation bekannt ist, zu sehen. Je fünf Kühe zeigten im Vergleich von der Kontrolle zur Periode des Futterentzugs entweder einen Anstieg der HF (HF+) oder reagierten reziprok (HF-). Bei den beiden Gruppen HF+ und HF- konnte auch für die Parameter LF ($-12 \pm 3 \%$ vs. $11 \pm 6 \%$) und LF/HF ($-73 \pm 11 \%$ vs. $500 \pm 312 \%$) eine inverse Reaktion beobachtet werden. Die retrospektive Einteilung der Kühe in diese beiden Gruppen zeigte bei der Auswertung der Daten weitere signifikante Unterschiede bei den Parametern HR (HF+: 76 ± 2 bpm, HF-: 68 ± 2.4 bpm) und LMAX (HF+: 357 ± 26 ; HF-: 187 ± 52) in P1 (*ad libitum* Fütterung).

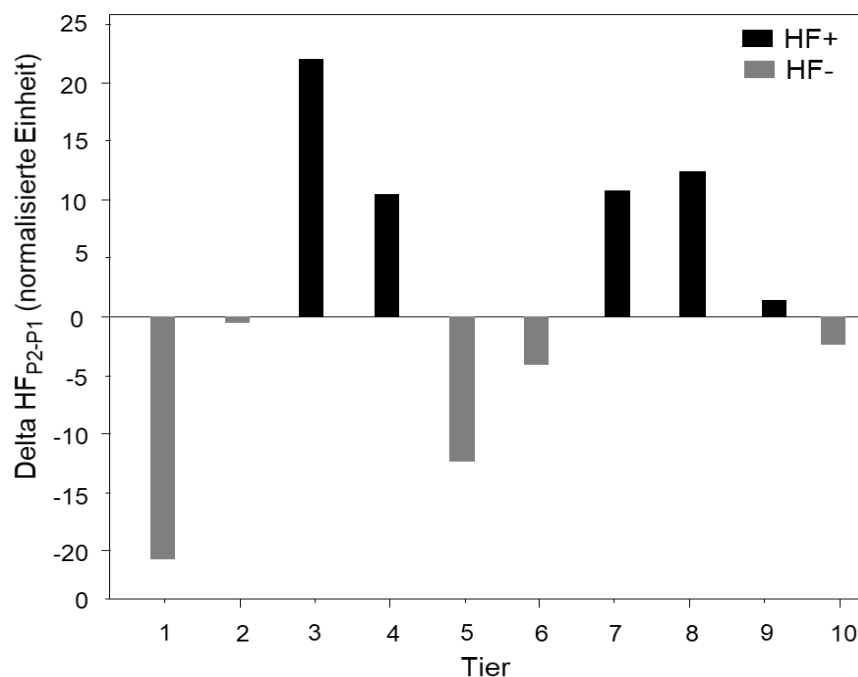


Abbildung 20: Reaktion auf den Futterentzug des HRV-Parameters HF. Die Reaktion von HF auf den Futterentzug ist durch das Delta von den HF-Werten aus P1 minus den HF-Werten aus P2 = ΔHF_{P2-P1} für jede einzelne Kuh dargestellt. Das Ansteigen des Vagus-Tonus bei fünf von zehn Tieren (ΔHF_{P2-P1} Anstieg) wurde als HF+ definiert, die gegensätzliche Reaktion bei den anderen fünf Tieren (ΔHF_{P2-P1} Abnahme) als HF-.

Ein möglicher Zusammenhang zwischen diesen Parametern und ΔHF_{P2-P1} wurde anschließend durch den Einsatz einer Regressionsanalyse überprüft. Das Bestimmtheitsmaß r^2 für HR ($r^2 = 0,372$) und RR ($r^2 = 0,325$) war zu niedrig, um diese Parameter für eine Vorhersage von Abhängigkeiten zu verwenden. Jedoch ergab das Regressionsmodell mit LMAX als unabhängige Variable ein r^2 von 0,76 (Abbildung 21A) und ist da-

mit gut geeignet, die abhängige Variable $\Delta\text{HFP2-P1}$ vorherzusagen. Mit diesem Regressionsmodell wurde ein Schwellenwert ($\text{SW} = 0 = -23,14 + 0,0897 \cdot \text{LMAX}$) für LMAX ($\text{SWLMAX} = 258$) kalkuliert. Anschließend wurden die zehn Kühe anhand dieses Schwellenwertes erneut in zwei Gruppen eingeteilt worden. Die Kühe, die unter dem Schwellenwert lagen, sind als $<\text{LMAX}$ definiert und die anderen Kühe über dem Schwellenwert als $>\text{LMAX}$ (Abbildung 21B). Nach der neuen Einteilung der SWLMAX-Gruppen sind die Gruppen nun nicht mehr gleich groß. Die Gruppe $>\text{LMAX}$ bilden drei Kühe aus der Gruppe HF-. Die verbleibenden zwei Kühe der Gruppe HF- bilden mit den Tieren der Gruppe HF+ die neue Gruppe $>\text{LMAX}$. In der Abbildung 21B zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen $<\text{LMAX}$ und $>\text{LMAX}$ in den P1 Werten für HF ($19,6 \pm 4,0$ n.u. vs. $4,7 \pm 2,6$ n.u., $P < 0,002$), LF ($80,4 \pm 4,0$ n.u. vs. $95,3 \pm 2,6$ n.u., $P < 0,002$) und LMAX ($109,3 \pm 26,1$ vs. $348,2 \pm 17,1$, $P < 0,001$).

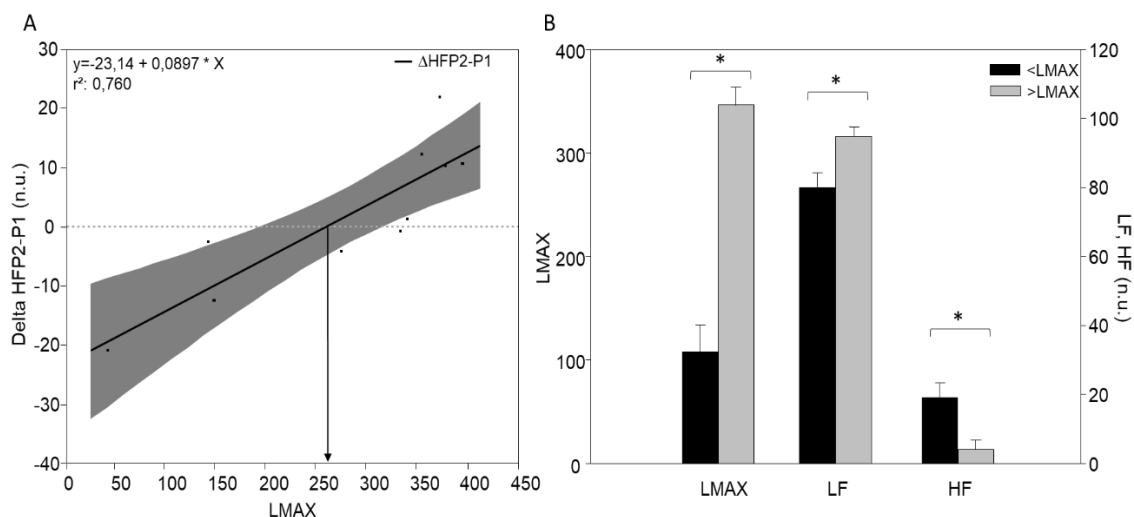


Abbildung 21: Vorhersage von Gruppenunterschieden bei der autonomen Kontrolle durch den nichtlinearen HRV-Parameter LMAX. A: Für die Regressionsanalyse war $\Delta\text{HFP2-P1}$ als abhängige und LMAX als unabhängige Variable bestimmend. Durch das Bestimmtheitsmaß mit guter Vorhersagekraft ($r^2 = 0,760$) des Regressionsmodells konnte für LMAX ein Schwellenwert ($\text{SW} = 258$) ermittelt werden. Anhand dieses Schwellenwertes sind 2 Gruppen eingeteilt worden: Werte größer SW ($>\text{LMAX}$) und Werte kleiner SW ($<\text{LMAX}$). **B:** In der Kontrollgruppe (P1; *ad libitum* Fütterung) unterscheiden sich die beiden Gruppen $>\text{LMAX}$ ($n = 7$) und $<\text{LMAX}$ ($n = 3$) in den HRV-Parameter LMAX (* $P < 0,001$), HF (* $P < 0,002$) und LF (* $P < 0,002$).

4.2.4 Charakterisierung der phänotypischen Unterschiede zwischen den Kühen eingeteilt nach den Gruppen <LMAX und >LMAX

4.2.4.1 Ergebnisse aus den Versuchen in der Respirationskammer.

Um mögliche phänotypische Unterschiede zwischen den Gruppen <LMAX und >LMAX aufzudecken, wurde im nächsten Schritt für die beiden Gruppen alle Parameter (Tabelle 12) am Tag 1 mit *ad libitum* Fütterung (P1) und am Tag 2 mit einer restriktiven Fütterung (P2 + P3 zusammengefasst als Tag) in der Respirationskammer überprüft. Um die Zuverlässigkeit des Parameters LMAX einschätzen zu können, wurden für die praxisnahe Auswertung die Tageswerte des Kontrolltages und Tages mit restriktiver Fütterung ap und pp miteinander verglichen. In der Respirationskammer wurden dann bei gleichem Versuchsaufbau alle Parametern sowie zusätzlich die Daten der Milchparameter ECM, Milchfett, Milchlaktose, Milchprotein, Fett/Protein-Quotient auch in der zweiten Woche nach der Kalbung untersucht. Der Tag 3 ist definiert als Kontrolltag mit einer *ad libitum* Fütterung (P1) pp. Tag 4 ist der restriktive Fütterungstag mit einem zehnstündigen Futterentzug (P2) und dem anschließenden vierzehnstündigem Refeeding (P3). Die Kühe der Gruppe <LMAX zeigten ap während des restriktiven Fütterungstages (Tag 2) eine signifikant höhere KT als die >LMAX Kühe. Weiterhin hatten die Kühe der Gruppe <LMAX einen höheren Kortisolspiegel als die der Gruppe >LMAX während der des Kontrolltages 1 (P1) mit *ad libitum* Fütterung (Tabelle 12). Am Tag 1, 2, 3 und 4 hatten die Kühe der Gruppe <LMAX höhere Kortisolwerte als die >LMAX-Kühe ($6,7 \pm 0,5$ nM/l vs. $5,1 \pm 0,3$ nM/l, $P < 0,03$). Weitere Gruppenunterschiede haben sich im Versuch pp am Tag 4 (P2 + P3) für die Parameter Kortisol Peak (Maximalwert am Ende von P2) und ECM herauskristallisiert, wobei hier die Werte der Gruppe >LMAX höher lagen als die der anderen Gruppe.

Tabelle 12: Gruppenunterschiede zwischen <LMAX und >LMAX ap sowie pp bei Parametern zum metabolischen Status und Stresslevel

Parameter	Einheit	Tag	<LMAX		>LMAX		P-Wert
			LSM	SE	LSM	SE	
KT	(°C)	1	38,53	0,16	38,30	0,11	n.s.
		2	38,64	0,11	38,27	0,07	0,0206
		3	38,92	0,15	38,63	0,15	n,s
		4	38,93	0,24	38,50	0,16	n.s.
Kortisol	(nM/l)	1	6,22	0,51	4,86	0,33	0,0534
		2	6,07	0,75	5,27	0,49	n.s.
		3	6,60	1,10	7,23	0,72	n.s.
		4	8,75	1,78	11,17	1,16	n.s.
Kortisol Peak	(nM/l)	2	6,76	1,35	5,22	0,88	n.s.
		4	8,40	1,88	15,05	1,23	0,0200
WP	(kJ/kg ^{0,75} /d)	1	750,12	80,12	744,80	52,45	n.s.
		2	703,75	73,23	702,02	47,94	n.s.
		3	953,54	45,45	1064,14	29,75	0,0761
		4	902,22	58,51	1016,78	38,30	n.s.
EBexp	(MJ ME/d)	1	-6,07	6,32	6,80	4,14	n.s.
		2	-14,20	11,69	-1,25	7,66	n.s.
		3	-66,98	21,22	-94,17	13,89	n.s.
		4	-66,77	20,04	-115,60	13,12	0,0759
ECM	kg/d	3	40,59	3,88	50,14	2,54	0,0734
		4	40,93	2,20	49,86	1,44	0,0095

Tag 1/3 (P1) = Kontrolle (*ad libitum* Fütterung) ap/pp

Tag 2/4 (P2 + P3) = Fasten und *Refeeding* (*ad libitum* Fütterung) ap/pp

Daten angegeben als LS Means ± Standardfehler, n = 16

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen <LMAX und >LMAX (P < 0,05)

n.s. = nicht signifikant

4.2.4.2 Ergebnisse unter normalen Haltungsbedingungen

Zur weiteren Untersuchung, ob sich der Parameter LMAX zur Vorhersage unterschiedlicher Phänotypen eignet, sind die Daten während der Wochen -5 bis -2 (ap) und 2 bis 5

(pp) aus dem anderen Versuchsteil des gemeinsamen Forschungsprojektes ausgewertet worden (SCHÄFF et al., 2012; SCHÄFF et al., 2013; BÖRNER et al., 2013a; BÖRNER et al., 2013b). Die Ergebnisse (n = 16 Kühe) in der Tabelle 13 zeigen die zusammengefassten Parameter mit signifikanten Unterschieden der beiden Gruppen >LMAX und <LMAX. Vor der Kalbung unterschieden sich die Insulinwerte signifikant. Die Kühe der Gruppe >LMAX weisen eine deutlich, um 227 %, höhere Insulinkonzentration auf. Nach der Kalbung zeigt diese Gruppe auch eine um sechzehn Prozent höhere TMA und eine um dreizehn Prozent höhere ECM im Vergleich zur Gruppe <LMAX auf. Der NEFA-Gehalt war nur in der Woche 2 pp in der Gruppe >LMAX signifikant höher (<LMAX: $548 \pm 145 \mu\text{M/l}$; >LMAX: $931 \pm 84 \mu\text{M/l}$; $P = 0,0242$).

Tabelle 13: Gruppenunterschiede zwischen <LMAX und >LMAX ap sowie pp unter normalen Haltungsbedingungen für die Kühe

Parameter	Einheit	Woche	<LMAX		>LMAX		P-Wert
			LSM	SE	LSM	SE	
Insulin	$\mu\text{g/l}$	ap	8,41	5,64	27,50	3,74	0,0274
		pp	6,86	3,04	7,67	1,99	n.s.
TMA	kg/d	ap	10,50	1,12	12,65	0,65	n.s.
		pp	15,99	0,73	18,51	0,42	0,0099
ECM	kg/d	pp	41,80	1,97	47,29	1,14	0,0302

ap = Woche -5 bis -2, pp = Woche +5 bis +2,

Daten angegeben als LS Means \pm Standardfehler, n = 16

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen <LMAX und >LMAX ($P < 0,05$)

n.s. = nicht signifikant

4.3 Diskussion Kapitel B

4.3.1 Allgemeine Anpassungsfähigkeit von Kühen bei Futterentzug

Im Vergleich zur Kontrolle (*ad libitum* Fütterung; P1) konnte bei allen Tieren eine reduzierte WP während des zehnstündigen Futterentzuges (P2) festgestellt werden. Dies ist eine Reaktion zur Energieeinsparung (DERNO et al., 2005; FREETLY et al., 2006; BROSH 2007). Ebenso trägt eine unzureichende Durchblutung der Viskeralgewebe

(*Portal-Drained Viscera*), hauptsächlich Pansen und Leber, und somit eine sinkende Stoffwechselrate dieser Organe deutlich zur Energieeinsparung bei (CHILLIARD et al., 1998). Alle Kühe zeigten ebenso eine geringere Aktivität, verdeutlicht in geringer Bewegung und kürzeren Stehzeiten, während des Futterentzugs (P2). Diese Ergebnisse sind gegensätzlich zu den Versuchsergebnissen mit Ochsen (DERNO et al., 2005) und Kälbern (SCHRAMA et al., 1995), die mehr Stehzeiten während der restriktiven Fütterung hatten. Die Daten der Milchkühe aus dieser Studie deuten auf eine reduzierte aktivitätsbezogene WP als Hauptbestandteil der kurzzeitigen Verhaltensanpassung auf einen Futterentzug hin. Die HR von Milchkühe muss in Bezug auf ihren Stoffwechsel und ihr Verhalten berücksichtigt werden (BROSH, 2007), HR war in P1 bis P3 positiv korreliert mit WP. Die Ergebnisse von HR in P1 und P3 mit 72 ± 2 Schlägen/min sind vergleichbar mit denen anderer Untersuchungen für tragende, nicht laktierende Kühe (MOHR et al., 2002; HAGEN et al., 2005; DAVIDSON & BEEDE, 2009). In der Phase des Futterentzuges (P2) zeigten alle Kühe unverzüglich eine starke HR-Reduktion. Die HR sinkt bei einer geringeren Sympathikusaktivität, die auf das Herz einwirkt (YOUNG & LANDSBERG, 1977). Auch eine verstärkte Vagus-Aktivität kann die autonome Herzaktivität und somit die HR verlangsamen (CLABOUGH & SWANSON, 1989; DESPRÉS et al., 2002). Ein gesteigener NEFA-Gehalt im Plasma weist auf eine Nährstoffversorgung über die Lipolyse hin (GROSS et al., 2011; WEBER et al., 2013). Während der NEB steigen sowohl die KT als auch die Plasmakortisolwerte an. Jedoch sind in der Gruppe > LMAX verringerte KT- und Kortisolwerte im Vergleich zur Gruppe <LMAX festgestellt worden. Das ist ein physiologischer Mechanismus, um den Energieaufwand zu verringern und die Glukoseversorgung zum Gewebe sicherzustellen (SAMUELSSON et al., 1996; TURBILL et al., 2011). Die fehlende Signifikanz der Kortisolwerte zwischen der *ad libitum* Fütterung (P1) und dem Futterentzug (P2) vor der Kalbung könnte durch tierindividuelle Unterschiede, die zirkadiane Schwankung, oder einen durch den zehnstündigen Futterentzug insgesamt zu geringen Stresspegel bedingt sein. Es ist nachgewiesen (THUN et al., 1981), dass die Kortisolwerte im Blut am Morgen am höchsten sind und im Laufe des Tages abnehmen. Auch bei der KT konnten über alle Kühe keine Signifikanzen zwischen den Perioden ermittelt werden. Dies verstärkt den Verdacht, dass die metabolische Belastung in P2 ap nicht ausreichend war.

4.3.2 Frequenzbereichsparameter der HRV-Analyse weisen unterschiedliche Regulationen auf

Die Frequenzbereichsanalyse der HRV bestätigte diese als ein komplexes Werkzeug für die Detektion der ANS-Regulation auf das Herz (YANG et al., 2000). Die Ausbreitung der Power und die zentrale Frequenz der spektralen HRV-Parameter ist ebenso abhängig vom Status des zentralen Nervensystems (CABIDDU et al., 2012). Damit reflektieren diese Parameter die regulatorische Kapazität des ANS und dessen Aktivität als Antwort auf psychophysiologischen Stress (VON BORELL et al., 2007). In Hinblick auf die oszillierenden Frequenzen und die zugrundeliegenden Mechanismen werden die Frequenzbereichsparameter für Kurzzeitmessungen in Hoch – und Niederfrequenz eingeteilt (YANG et al., 2000). Der LF-Parameter bildet den Tonus von Parasympathikus und auch Sympathikus ab (VON BORELL et al., 2007). Der HF-Parameter reflektiert dagegen vorwiegend die parasympathische Steuerung (DESPRÉS et al., 2002; KÉZÉR et al., 2014). Das Verhältnis aus LF- und HF-Parametern (LF/HF) spiegelt die sympatho-vagale Balance wider, aber auch die sympathische Regulierung (YANG et al., 2000; STEWART et al., 2008). In dieser Studie wurden die Kühe zunächst individuell anhand des Verhaltens der Frequenzbereichsparameter, die sich durch eine unterschiedliche autonome Regulation als Antwort auf den Futterentzug äußerte, betrachtet und anhand dessen anschließend retrospektiv in zwei Gruppen eingeteilt. Die Kühe der Gruppe HF+ reagierten in der Phase des Futterentzuges mit einem HF-Anstieg und einem LF/HF-Abfall und zeigten damit eine erhöhte Aktivität des Parasympathikus des ANS (CLA-BOUGH & SWANSON, 1989; DESPRÉS et al., 2002). Im Gegensatz dazu zeigten die Kühe der Gruppe HF- einen Abfall des Parameters HF begleitet von einem zweihundertprozentigen Anstieg von LF/HF. Diese Gruppe reagierte damit auf den Futterentzug mit einer geringeren Parasympathikusaktivität und die sympatho-vagale Balance verschob sich mehr in Richtung Sympathikus des ANS. In diversen früheren Studien (MOHR et al., 2002; HAGEN et al., 2005; GYGAX et al., 2008; STEWART et al., 2008; KÉZÉR et al., 2014) zeigte sich eine reduzierte Parasympathikusaktivität in Verbindung mit Stress, verringertem Wohlbefinden und Anpassungsfähigkeit. Dies wird durch die vorliegende Studie bestätigt, da hier die Kühe der Gruppe HF- die Zeit ohne Futter mit einem höheren Stresslevel und geringer Anpassungsfähigkeit erleben als die Kühe der Gruppe HF+. In einem zweiten Schritt wurde untersucht, ob sich die beobachteten Differenzen zwischen den retrospektiv eingeteilten Gruppen bei bestimmten HRV-

Parametern auch in der Kontrollperiode mit *ad libitum* Fütterung (P1) wiederfinden lassen. Dies war bei den voneinander abhängigen Parametern HR und RR und interessanterweise auch bei LMAX der Fall. Die Dauer der Parameter HR und RR sind Durchschnittswerte basierend auf einen Fünf-Minuten-Zeitraum, in dem die Einflüsse verschiedener Faktoren, wie Stoffwechsel und motorische Aktivität, integriert sind. Kurzfristige Schwankungen, Entwicklungen oder geänderte Regulierungen während dieser Zeitspanne bleiben verborgen, was die Brauchbarkeit als prädiktiver Marker einschränkt. Das konnte durch eine Regressionsanalyse mit $\Delta\text{HFP2-P1}$ und einem niedrigen Bestimmtheitsmaß für HR ($r^2 = 0,37$) und RR ($r^2 = 0,33$) bestätigt werden. Im Gegensatz dazu beschreibt LMAX die Dynamik des Regulationsprozesses während eines Fünf-Minuten-Zeitintervalls. Der Status eines natürlichen Systems ändert sich im Laufe der Zeit. Diese Änderungen können mithilfe des *Recurrence Plots* dargestellt werden. Dabei wird durch Trajekturen (Vektoren) das Verhalten von Elementen, dargestellt durch Punkte, in einem Phasenraum beschrieben. Im *Recurrence Plot* ist LMAX als längste diagonale Linie vorzufinden. Die Länge der diagonalen Linie ist durch die Dauer gleicher lokaler Entwicklungen von trajektorischen Bereichen bestimmt. Je weiter die trajektorischen Segmente auseinanderklaffen, desto kürzer ist die diagonale Linie (MARWAN et al, 2007). Das bedeutet, dass das System zwischen unterschiedlichen Zuständen wechselt. Daher ist LMAX besser dazu geeignet, Unterschiede in der zentralen autonomen Regulation zu beschreiben. Das spiegeln auch die Ergebnisse der Regressionsanalyse $\Delta\text{HFP2-P1}$ mit einem hohen Bestimmtheitsmaß für LMAX ($r^2 = 0,76$) wider. Dieser hohe r^2 -Wert erlaubt eine Kalkulation eines Schwellenwertes für LMAX, in dieser Studie lag der SWLMAX bei 258. Damit erfüllt LMAX die Voraussetzung für die Anwendung als vorausdeutender Marker. Ein kleinerer LMAX-Wert bedeutet eine kürzere Linie und damit eine höhere Fluktuation in der Kontrolle eines Systems. Währenddessen ein größerer LMAX-Wert mit mehr deterministisch-chaotischen Charakter der Zeitreihe korrespondiert (MOHR et al., 2002). In der vorliegenden Studie reagierten die Kühe der Gruppe <LMAX während der *ad libitum* Fütterung mit einer eingeschränkten, stabilen Regulierung und einer stärkeren Regulierung während des metabolischen Stresses des Fastens (P2) (Tabelle 10). Das deutet auf eine eingeschränkte regulatorische Kapazität der Tiere der Gruppe <LMAX im Vergleich zu >LMAX hin. LMAX scheint damit zur Detektion von Veränderungen der autonomen Regulation nutzbar zu sein, um metabolische Störungen bei trächtigen und laktierenden Kühen mit Energiedefizit zu detektieren.

4.3.3 LMAX als möglichen Prädiktor für eine gestörte autonome Regulation bei metabolischem Stress

Nach der Einteilung der Kühe in die LMAX-Gruppen konnten einige phänotypische Differenzen, vor allem in der Laktation und in Verbindung mit dem zusätzlichen Stress während des Futterentzugs, beobachtet werden (Tabelle 12 und 13). Bei den tragenden Kühen unterschieden sich die Gruppen bei den Stressparametern KT und Kortisol, was frühere Beobachtungen bestätigt (WILLETT & ERB, 1972; KATAOKA ET AL., 2014); beide Parameter waren bei der Gruppe <LMAX höher als bei >LMAX. Die höhere KT an Tag 2 (P2 + P3) ap der Gruppe <LMAX deuten eine Entwicklung von stressinduzierter Hyperthermie (SIH) während des Futterentzugs an. SIH bedeutet eine Erhöhung der KT, die vor und während des Belastungsstress entsteht, jedoch nicht als Fieber zu betrachten ist (VINKERS et al., 2010). Eine SIH konnte auch bei Kälbern am Auge durch Infrarotkamera, denen bei der Enthornung ohne lokale Betäubung, festgestellt werden. STEWART et al. (2008) führten dies auf eine sympathische Vasokonstriktion, die möglicherweise durch Schmerz ausgelöst wurde, zurück. Ferner verursachen SIH durch den *dorsomedialen* Hypothalamus und die postganglionären Neuronen des Sympathikus in der *rostralen* Medulla-Raphe-Region die Thermogenese und eine periphere Gefäßverengung (KATAOKA et al., 2014). Dies stimmt mit der hier gefundenen Aktivierung des sympathischen Zweiges des ANS in den tragenden, gefasteten Kühen der Gruppe <LMAX überein. Der Blutplasmaspiegel von Kortisol wird durch die Fütterung und den Ernährungszustand beeinflusst (SAMUELSSON et al., 1996; CHILLIARD et al. 1998). Ein Anstieg gilt als vorausschauende Reaktion auf eine bevorstehende Fütterung (WILLETT & ERB, 1972). Erhöhte Kortisolwerte sind zudem wichtig für die Glukoseversorgung während einer NEB (SAMUELSSON et al., 1996). Allerdings zeigte sich in dieser Studie ein deutlicher Anstieg nur in der Laktation bei der Gruppe >LMAX am zweiten Tag (P2 + P3). Der Spitzenwert an Kortisol war am Tag 4 bei den >LMAX Kühen signifikant höher. Da dieser Wert am Ende der P2-Periode gemessen wurde, reflektiert er die Kortisolreaktion auf den Futterentzug. In einer Stresssituation sorgt die HPA-Achse für eine schnelle Aktivierung der Energiebereitstellung (MORMEDE et al., 2007). Bei dauerhaftem Stress wird der Kortisolgehalt im Blutplasma jedoch nicht aufrechterhalten, weshalb chronischer Stress nicht an Blutkortisolwerten zu erkennen ist. Die sympatho-adrenal-medulläre-Achse (SAM-Achse) wird ebenfalls in einer Stresssituation aktiviert, vermittelt durch einen gesteigerten

Sympathikus, der letztlich zu einer gesteigerten Produktion von Katecholaminen anregt. (KANITZ et al., 1999). Das ANS ist durch diese beiden Achsen eng mit dem Immunsystem verbunden. Kortisol zählt zudem zu den entzündungshemmenden und immunsuppressiven Hormonen (TUCHSCHERER & MANTEUFFEL, 2000). Allerdings bestätigte sich dies in dieser Studie nicht, da die Kortisolwerte beider Gruppen größtenteils vergleichbar waren. Es zeigte sich dagegen, dass die Kühe in der <LMAX-Gruppe ein höheres Stresslevel und einen instabileren Regulationsprozess zeigten, was auch mit den Ergebnissen der deutlich reduzierten energiekorrigierten Milchmenge übereinstimmt. Interessanterweise konnten auch nach Einteilung der Kühe in die jeweiligen LMAX-Gruppen bei einer größeren Stichprobe unter normalen Haltungsbedingungen (SCHÄFF et al., 2012; SCHÄFF et al., 2013; BÖRNER et al., 2013a; BÖRNER et al., 2013b) signifikante Unterschiede. Die geringeren Insulinwerte vor sowie die geringere TMA und ECM nach der Kalbung bei der <LMAX-Gruppe bestätigen eine höhere Stressbelastung der Tiere (MORMEDE et al., 2007; VON BORELL et al., 2007; GYGAX et al., 2008; KOVÁCS et al., 2015). Das zeigt deutlich, dass Untersuchungen an einer größeren Stichprobe von Kühen unter praktischen Bedingungen notwendig sind, zur Bewertung, ob LMAX als vorausschauendes Werkzeug zur Identifizierung von Tieren mit einem Risiko bzw. von robusteren Tiere mit hoher Anpassungsfähigkeit dienen kann.

4.4 Zusammenfassung Kapitel B

Milchkühe können besonders in der Frühlaktation nicht ausreichend Energie über das Futter aufnehmen, um den Energiebedarf für die enorme Milchleistung abzudecken. Dadurch erleben die Kühe eine Phase der NEB mit hoher metabolischer Belastung, die sich in einer reduzierten Immunantwort und in vermehrten Gesundheitsproblemen äußert. Aus diesem Grund ist es wichtig, Marker zu finden, die frühzeitig Auskunft über gefährdete Tiere geben und die es ermöglichen, Tiere mit einer hohen Anpassungsfähigkeit und Robustheit zu selektieren. Das ANS mit dem Sympathikus und dem Parasympathikus spielt eine große Rolle bei der Adaption an eine unzureichende Energieversorgung und die Vermittlung bei einer Stressantwort. Gleichzeitig steuert es die HR. Daher reflektiert die HRV die ANS-Aktivität und die sympatho-vagale Balance. Die Analyse der Versuchsdaten ergab, dass die Parameter HF und LF der Frequenzbe-

reichsanalyse zur Charakterisierung der ANS-Regulation geeignet sind. Dabei spiegelt HF die Aktivität des Parasympathikus, LF vorwiegend die Aktivität des Sympathikus und die LF/HF die sympatho-vagale Balance wider. Retrospektiv wurden die Tiere anhand dieser Parameter in zwei Gruppen, die unterschiedlich auf einen Futterentzug reagiert haben, eingeteilt. Die Tiere der Gruppe HF+ wiesen eine hohe Vagusaktivität auf und zeigten weniger Stressanzeichen während eines Futterentzugs. Das anschließende Ziel der Auswertung der Versuchsdaten war es, einen geeigneten Parameter zur frühzeitigen Erkennung einer fehlenden Anpassungsfähigkeit auf metabolische Belastungen zu finden. Dabei kristallisierte sich der nichtlineare HRV-Parameter LMAX als bester Vorhersager heraus. Die Gruppe <LMAX zeigte eine eingeschränkte Regulationsfähigkeit auf metabolische Belastung durch einen Futterentzug unter standardisierten Bedingungen in der Respirationsskammer. Zudem bestätigte die Gruppe <LMAX in einigen Indikatoren nach der Kalbung eine gesteigerte Stressantwort mit geringerer Adaptionsfähigkeit.

5 Zusammenfassende Diskussion

Das wichtigste Zuchtziel für Kühe der Rasse Deutsche Holstein ist eine Steigerung der Milchleistung und damit einhergehend auch eine hohe Futteraufnahme sowie Stoffwechselrate (KENNEDY et al., 2003). Allerdings reagieren Kühe unterschiedlich auf metabolischen Stress. Dieser entsteht während Zeiten hoher metabolischer Belastungen, wie während der NEB in der Früh-laktation, wenn der enorme Energiebedarf nicht mehr über die Futteraufnahme abgedeckt werden kann (STÜRMER, 2009). Folgen der starken Belastung während der Transitperiode sind infektiöse, metabolische oder digestive Erkrankungen (LEBLANC et al., 2006; GROSS et al., 2011). Subklinische Stoffwechselstörungen wiederum sind verantwortlich für eine gestörte homöorhetische und homöostatische Anpassung, die sich in gesundheitlichen Problemen und einer reduzierten Leistung äußern (MUDRON et al., 2005).

Veränderungen des Energiebedarfs bei Milchkühen

In den letzten Jahrzehnten führten eine intensive Zucht und Optimierungen der Milchviehfütterung und des Managements zu einer deutlichen Steigerung der Milchleistung bei Kühen der Rasse Deutsche Holstein (VEERKAMP et al., 2000). Dadurch veränderte sich auch der Erhaltungsbedarf bei Kühen mit einer Milchleistung über 10.000 kg. Die Ursachen sind im Detail (zusammengefasst in GRUBER et al., 2008):

1. Höhere Milchsynthese
2. Höhere Futteraufnahme
3. Intensivere Fettmobilisation
4. Gestiegene Aktivität von Verdauung, Metabolismus und Herz-Kreislauf-System
5. Höherer Proteingehalt im Körper
6. Höheres Gewicht der beanspruchten Stoffwechselorgane (z.B. Leber).

Milchkühe verbrennen in der Laktation, vor allem in der Früh-laktation, sehr viel Energie in Körpersubstanzabbau- und Milchsyntheseprozessen (BROSH et al., 2002; WEBER et al., 2013). Dies trägt maßgeblich zur WP bei (BROSH et al., 2002). Die Ergebnisse in diesem Projekt bestätigen den erhöhten Energieaufwand von Milchkühen vor allem in der Laktation (Kapitel A). Im Vergleich zur Trockenstehperiode zeigte sich nach der Kalbung eine deutliche Steigerung der WP, TMA und WA und in Folge eine

deutliche höhere Fermentation im Pansen. Die EBest zeigte sich signifikant unterschiedlich zur EBexp. Die Differenz vergrößerte sich in der Laktation. Einige Autoren (AGNEW et al., 2003; GRUBER et al., 2008) geben an, dass die ME für Erhaltung von trockenstehenden und laktierenden Kühen um 12 bis 15 % größer als die bisherigen Empfehlungen ist. Somit unterschätzen gängige Fütterungssysteme den eigentlichen Bedarf der Milchkühe, vor allem aufgrund der zur Analyse verwendeten Schlüsselparameter und der Anwendung eines linearen Modells. Die Daten zur Schätzung des Nettoenergiebedarfs für die Erhaltung wurden entweder von trockenstehenden Kühen und Ochsen (ARC, 1980; GfE, 2001) oder mit linearer Regression aus der Milchenergieabgabe, angepasst an eine EB von Null, abzüglich der ME hergeleitet (MOE et al., 1972; VAN ES, 1975). Dabei ist der Berechnungsfaktor für den Erhaltungsbedarf eine mögliche Ursache für die Fehleinschätzung des Energiebedarfes. Die Energieeinnahmen und die ECM gehen sowohl bei den geschätzten Formeln der GfE, der INRA, und des NRC, als auch bei der experimentell bestimmten Formel in gleicher Größe ein. Die gemessene WP ist die Summe aller wärmebildenden anabolen und katabolen Stoffwechselprozesse im Tierkörper (DERNO et al. 2005). Sie ergibt sich aus der Wärme für den klassisch ermittelten Erhaltungsbedarf, für die Milchsynthese, für den Auf- und Abbau von Körpersubstanz, für motorische Aktivität sowie aus der diätinduzierten WP (DERNO et al., 2005). Der klassische Erhaltungsbedarf wurde mit Versuchsrindern ermittelt, die sich im Fütterungsniveau für Erhaltung befanden, also nicht trächtig, nicht laktierend und ausgewachsen waren (AGNEW & YAN, 2000; AGNEW et al., 2003; GRUBER et al., 2008). Mithilfe der Indirekten-Kalorimetrie-Messungen kann die Methanenergieausscheidung und die WP genau berechnet werden. Der Nachteil dieser Methode ist jedoch ein kurzer Messzeitraum und eine eingeschränkte Bewegungsmöglichkeit der Tiere im Gegensatz zur Laufstallhaltung, was sich wiederum auf die Aussagekraft auswirken kann. Aus diesem Grund ist die Anpassung der empfohlenen Gleichungen an die Bedingungen in der Praxis dringend notwendig (AGNEW et al., 2003). Es ist anzunehmen, dass die Spanne zwischen EBest und EBexp unter praktischen Bedingungen die in diesem Versuch gefundene sogar noch übertrifft (AGNEW et al., 2003). Das *Standing Committee on Agriculture and Resource Management* (SCA) in Australien passt den Erhaltungsbedarf an die Milchleistungen an. In diesem Fütterungssystem werden 10 % der ME für Milch dem Erhaltungsbedarf zugerechnet (SCA, 1990). Anhand der Ergebnisse der Einzeltierdaten dieser Studie ist deutlich erkennbar, dass die Tiere sehr unterschiedlich mit der Stoffwechselbelastung nach der Kalbung umgehen. Aus diesem Grund sind weitere

Experimente in Respirationskammern mithilfe der indirekten Kalorimetrie notwendig, um repräsentative Daten für eine angepasste Schätzformel für die heutigen Milchkühe zu entwickeln.

Auswirkungen der NEB in der Laktation und/oder durch einen definierten Futterentzug in den Respirationskammern

In dieser Arbeit konnte bestätigt werden, dass die heutigen Kühe die stark ansteigende Milchleistung in den ersten Wochen der Laktation nicht über die Futteraufnahme abdecken können und dadurch in eine tiefe NEB gelangen, die über Wochen persistiert. Diese Ergebnisse stimmen mit der aktuellen Literatur überein (HAMMON et al., 2009; WEBER et al. 2013). Eine ausgeglichene EB stellt sich nach zehn bis vierzehn Wochen nach der Kalbung ein (REIST et al., 2002; MAHLKOW-NERGE, 2011). Die Ausprägung und die Dauer der NEB hat sich durch die Zucht auf Milchleistung verstärkt (MARTENS, 2014). Das führt vor allem bei Milchkühen zu einer verstärkten Mobilisierung der Körperreserven Fett und Protein (BUTLER & SMITH, 1989; DRACKLEY, 1999, ALLEN et al., 2005;) und steigert das Risiko für Stoffwechselstörungen sowie sekundären Erkrankungen (LEBLANC et al., 2006; MARTENS, 2012). Als Indikatoren für die Mobilisierung der Körperreserven dient die Abnahme von LM und RFD. Beide haben sich in dieser Studie erwartungsgemäß reduziert. Die empfohlenen Referenzwerte für die RFD liegen zum Trockenstellen zwischen 19 mm und 27 mm (STAUFENBIEL & SCHRÖDER, 2004), zur Kalbung zwischen 20 mm und 30 mm und sollten danach nicht kleiner als 14 -13 mm sein (STAUFENBIEL & SCHRÖDER, 2004). Diese Werte konnten in dieser Studie im Durchschnitt von keiner Gruppe zu keinem Zeitpunkt erreicht werden, was jedoch auch den unterschiedlichen Messmethoden, per Ultraschall bzw. Biopsie, geschuldet sein kann. Bei einer Einteilung der selben Versuchstiere gemäß dem postpartalen LFC im Plasma der HLFC- und LLFC-Kühe zeigte sich in Begleitstudien ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ap und pp (SCHÄFF et al., 2012; SCHÄFF et al., 2013; BÖRNER et al., 2013a; BÖRNER et al., 2013b). Die HLFC-Kühe weisen durchgängig höhere RFD, als die LLFC-Kühe auf und die RFD-Werte der HLFC-Einzeltiere lagen nahe der genannten Referenzbereiche. Bemerkenswert ist, dass die Indikatoren, wie RFD, Plasma-BHBA- oder -NEFA-Gehalt, bei den HLFC-Kühen in dieser Studie laut der Literatur nicht zu den überkonditionierten Tieren zählen, deren Fettdepot zur Kalbung übermäßig groß ist und die nach der Kalbung ver-

mehrt mit Probleme bezüglich Tiergesundheit, Reproduktion und Milchleistung zu kämpfen haben (STAUFENBIEL & SCHRÖDER, 2004; Lopez et al., 2004). Stürmer (2009) und WEBER et al (2013) berichten bei diesen Tieren eine geringere NEB, die durch eine bessere Futteraufnahme und/oder Futterverwertung und/oder weiteren sich ändernden Mechanismen im Körper bedingt sei. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Studie und seiner Begleitstudien, wo keine Differenzen zwischen den Gruppen in der TMA, EB und ECM festgestellt werden konnten (SCHÄFF et al., 2013; BÖRNER et al., 2013b). Ursache dafür könnte die Auswahl der Tiere nach dem gleichen DGAT1-Polymorphismus sein (WINTER et al., 2002; THALLER et al., 2003a; THALLER et al., 2003b; KÜHN et al., 2004). Das DGAT1 kann eine nicht synonyme Mutation (K232A) im Exon 8 aufweisen, so dass ein Austausch zwischen der Aminosäure Alanin gegen Lysin stattfindet (THALLER et al., 2003a). Dieser QTL-Effekt sorgt unter anderem für eine unterschiedliche Milchezusammensetzung und Milchmenge (WINTER et al., 2002). Die Variante mit Alanin spiegelt einen geringeren intramuskulären Fettgehalt (THALLER et al., 2003a), Milchfettgehalt und höhere Milchmenge (WINTER et al., 2002; THALLER et al., 2003b; KÜHN et al., 2004) wider, während die Lysin-Variante entgegengesetzte Ergebnisse zu den genannten Parametern zeigte. In einigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der Fettstoffwechsel in Verbindung mit der Futteraufnahme steht (HAMMON et al. 2009, WEBER et al. 2013). Somit könnten die fehlenden Gruppenunterschiede in TMA, EB und ECM durch die verringerte genetische Variation der Körper- bzw. Milchfettmenge durch die Auswahl des heterozygoten Anteils am Locus des Polymorphismus des DGAT1-Gens entstanden sein. STÜRMER (2009) hatte bezüglich der RFD die gleichen Erkenntnisse und stellte die These auf, dass die Referenzbereiche erneut bei den Kühen der Rasse Deutsche Holstein validiert werden müssen, da die bisherigen Referenzwerte anhand anderer Rassen mit geringerer Milchleistung bestimmt wurde. Die Ergebnisse der TMA trächtiger, trockenstehender Kühen sind höher als von der GfE (2001) empfohlen. Zusätzlich ist vor der Kalbung eine hoch signifikante, positive Korrelation zwischen TMA und EBexp, sowohl in der Respirationskammer (Kapitel A und B) als auch von der Woche -7 bis -1, aufgetreten. Diese Wechselwirkung zeigt sich auch nach der Kalbung. Die von der GfE (2001) empfohlene TMA konnte in dieser Studie trotz *ad libitum* Fütterung nicht erreicht werden. Aufgrund der starken Wechselwirkung zwischen TMA und EB über den gesamten Zeitraum ist von einem Anstieg der EB durch die ansteigende TMA auszugehen. Die gesteigerte Lipolyse ist gekennzeichnet durch die Abnahme der RFD (ING-

VARTSEN, 2006) und einen hohen Gehalt der NEFA im Blutplasma (ROSSOW, 2003; STÜRMER, 2009; WEBER et al. 2013). Diese Ergebnisse konnten über den gesamten postpartalen Zeitraum bestätigt werden. Die untersuchte Reaktion auf einen zehnstündigen Futterentzug in der Studie 2 (Kapitel B) zeigte sofort einen signifikanten Anstieg der NEFA-Werte im Blutplasma. Der Stoffwechsel versucht mittels unterschiedlicher Anpassungsmechanismen die NEB auszugleichen (HAMMON et al., 2009). Eine erhöhte NEFA-Konzentration im Blutplasma weist damit auf eine Nährstoffversorgung über Lipolyse hin (GROSS et al., 2011; WEBER et al., 2013). Die NEFA- und auch BHBA-Gehalte im Blutplasma sind in dieser Studie negativ mit der EB korreliert. Diese Wechselwirkung konnten auch andere Autoren bestätigen (REIST et al., 2002, WATHES et al., 2007). NEFA und BHBA dienen als Indikatoren für Energiestoffwechselbelastungen (FÜRL, 2005), wenn die Tiere nicht mit ausreichend Energie versorgt sind, zu hohe Gehalte an NEFA im Blut aufweisen und hohe LFC vorliegen (STÜRMER, 2009; WEBER et al., 2013). Das kann in dieser Studie und der Begleitstudie mit der Auswertung der HLFC- und LLFC-Kühe (SCHÄFF et al., 2012) bestätigt werden. Die erhöhte NEFA-Menge wird nicht nur zur Leber transportiert, sondern Milchkühen stehen weitere Adaptionswege bei Stoffwechselveränderungen zur Verfügung. Dies zeigte die Begleitstudie von SCHÄFF et al. (2013), wonach die Tiere im Muskelgewebe drei Tage nach der Kalbung erhöhte mRNA Abundanz von Genen, die für den Fettsäuretransport und die Fettsäureoxidation verantwortlich sind, aufwiesen. Sie folgerten daraus, dass der Transport und die Fettoxidation in die Mitochondrien im Muskelgewebe temporär zum Schutz der gesteigerten Leberfettoxidation erfolgt. Weiterhin konnte dargelegt werden, dass bei den HLFC-Kühen in der Früh-laktation vermehrt die peroxisomale β -Oxidation und die mitochondriale ω -Oxidation verbunden mit einer verringerten mitochondrialen β -Oxidation der Fettsäuren erfolgt (SCHÄFF et al., 2012). Dadurch sind hochmobilisierende Kühe stärker für oxidativen Stress und Entzündungen prädestiniert. Das wiederum hat einen negativen Einfluss auf das Immunsystem und die Gesundheit der Tiere (SCHÄFF et al., 2012). Beim Glukosegehalt ist der Einbruch von der 1. zur 2. Woche pp erfolgt mit anschließendem Wiederanstieg. Dieser Verlauf steht in Einklang mit den Studien von BUTLER (2000) und REIST et al. (2003), wobei der starke Abfall nach der Kalbung mit dem hohen Glukosebedarf für die Milchproduktion und der verringerten Futteraufnahme zu erklären ist (DRACKLEY et al., 2001; TAMMINGA, 2006). Der Insulingehalt in dieser Studie reduzierte sich schon eine Woche vor der Kalbung und stieg nach dem Tiefpunkt in der 2. Woche pp wieder an. Auch dies

steht in Einklang mit anderen Untersuchungen (REIST et al., 2003; STÜRMER, 2009). Allerdings stellte sich die Korrelation von Insulin mit der EB in dieser Studie nur ap und nicht in der Früh-laktation wie bei REIST et al. (2013) ein. Die beobachtete Insulin-resistenz stellt sich durch die Reduzierung des Insulingehaltes schon vor der Geburt ein (BAUMANN, 2001) und fördert die Lipolyse sowie die Glukoseverfügbarkeit für die Milchsynthese (VERNON, 1986; BELL, 1995; HAMMON et al., 2009). Leptin korrelierte vor der Kalbung signifikant mit der EB, aber nicht mehr pp. Die Ergebnisse von SCHÄFF et al. (2013) legten dar, dass die Leptinkonzentration im Blutplasma sich ausschließlich in der Transitperiode drei Wochen vor bis drei Wochen nach der Kalbung im Zeitverlauf zwischen den LFC-Gruppen signifikant unterschieden. Das heißt, Leptin steht in Verbindung mit der EB und der Futteraufnahme vor der Kalbung, aber nicht über den gesamten Laktationsverlauf. Auch in den Studien von HAMMON et al. (2009) und WEBER et al. (2013) konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Körperkon-dition und Leptin nicht bestätigt werden. Während der NEB (Tag 3 und 4, Tabelle 12) waren KT und Kortisolwerte im Plasma erhöht. Zusätzlich korrelierte pp die KT hoch signifikant mit EB (Tabelle 4). Jedoch zeigte die Gruppe >LMAX im Vergleich zu <LMAX eine geringere KT und Kortisolwerte. Die Kühe der Gruppe <LMAX deuten eine Entwicklung von stressinduzierter Hyperthermie (SIH) während des Futterentzugs an (Vinkers et al., 2010). Das sind Anzeichen für eine geringere Stressbelastung. Dadurch können die Kühe den Energieträger Glukose für die Versorgung der Gewebe verwenden, anstatt für stressinduzierte Regulationsmechanismen (SAMUELSSON et al., 1996; TURBILL et al., 2011). Die ECM zeigt keine Wechselwirkung mit der EB. Auch bei der Gruppeneinteilung nach dem LFC zeigte sich keine Wechselwirkung (SCHÄFF et al., 2013). Demnach müssen die Kühe selbst unter einer starken Stoffwechselbelastung vorrangig alles für die Milchsynthese investieren, solange es physiologisch ausgleichbar ist (HAMMON et al., 2009; MARTENS, 2012; WEBER et al., 2013). Im Gegensatz zur ECM stehen der Milchfett- und Milchproteingehalt in einer negativen Wechselwirkung mit der EB. Bei der Einteilung nach LFC die HLFC-Kühe signifikant höhere Milchfettgehalte (SCHÄFF et al., 2013). Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit denen anderer Autoren (HAMMON et al., 2009; WEBER et al., 2013). Damit kann der Zusammenhang zwischen steigenden Gehalten an NEFA während der NEB durch die Mobilisierung des Fettgewebes, vor allem bei Tieren mit erhöhtem Kör-perfettgehalt, und der gesteigerten Milchfettbildung bekräftigt werden. Im Gegensatz dazu korreliert der Milchlaktosegehalt positiv mit der EB. Die Konzentration an Lakto-

se in der Milch nimmt zu, wenn auch die EB positiver wird (WEBER et al., 2013). Gleichzeitig nahm der Milchfettgehalt ab. Sobald sich die Futteraufnahme wieder erhöhte und weniger Fettgewebe mobilisiert werden musste, wurde die EB positiver und es stand wieder mehr Glukose zur Verfügung. Dabei zeigten Kühe mit niedrigerem LFC eine höhere Glukoseverfügbarkeit und höhere Milchlaktosegehalte (REIST et al., 2003; HAMMON et al., 2009, WEBER et al., 2013). Dies konnte allerdings in der Begleitstudie dieser Studie nicht bestätigt werden (SCHÄFF et al., 2013), ebenso wenig Unterschiede in der Glukoseverfügbarkeit in Abhängigkeit der Körperfettmobilisierung. Dies kann jedoch der bereits erwähnten Auswahl der Tiere nach dem gleichen DGAT1-Polymorphismus geschuldet sein.

In den Respirationskammeruntersuchungen konnte im Vergleich zur Kontrolle (*ad libitum* Fütterung) bei allen Tieren eine reduzierte WP während des zehnstündigen Futterentzuges festgestellt werden, was anhand früherer Untersuchungen zu erwarten war (DERNO et al., 2005; BROSH, 2007). Eine verringerte Durchblutung zur Portal-drained Viscera, somit eine sinkende Stoffwechselrate dieser Organe, trägt vermutlich zur Energieeinsparung bei (CHILLIARD et al., 1998). Die Daten der Milchkühe aus dieser Studie deuten auf eine reduzierte aktivitätsbezogene WP als Hauptbestandteil für eine kurzzeitige Verhaltensanpassung auf einen Futterentzug hin. Bei Milchkühen muss die HR in Bezug auf ihren Stoffwechsel und ihr Verhalten beurteilt werden (BROSH, 2007). Die HR war in allen Phasen der Fütterung positiv mit WP korreliert. Die Ergebnisse der *ad libitum* Fütterung dieser Studie sind vergleichbar mit denen früherer Untersuchungen an trächtigen, nicht laktierenden Kühen (MOHR et al., 2002; HAGEN et al., 2005, DAVIDSON & BEEDE, 2009). In der Phase des Futterentzuges reagierten alle Kühe unverzüglich mit einer starken Reduktion der HR. Dies liegt zum einen an einer geringeren Sympathikusaktivität, die auf das Herz einwirkt (YOUNG & LANDSBERG, 1977), zum anderen an einer verstärkten Vagus-Aktivität durch die Erhöhung der HF-Werte (CLABOUGH & SWANSON, 1989; DESPRÉS et al., 2002).

HRV-Parameter zur Überwachung der Kühe bei metabolischen Stoffwechselbelastungen

Für das Herdenmanagement spielen bestimmte Indikatoren zur Überwachung der Tiergesundheit, der metabolischen Situation und der Anpassungsfähigkeit individueller Tiere und der Herde eine große Rolle (CHILLIARD et al., 1998; MUDRON et al., 2005).

Dazu zählen die tierbezogenen Indikatoren, wie Tierverluste, Nutzungsdauer und Lahmheit, aber auch der Gehalt bestimmter Metaboliten und Hormone im Blut, in der Milch oder im Urin. Es ist daher im Sinne des Nutztierhalters das Wohlergehen seiner Tiere systematisch zu kontrollieren, zumal er laut Tierschutzgesetz (§11 Abs. 8, TierSchG, 2006) auch gesetzlich dazu verpflichtet ist, „Tierschutzindikatoren zu erheben und zu bewerten“

Das ANS steuert unter anderem die Anpassungsprozesse auf eine unzureichende Energieaufnahme, Energieverfügbarkeit und den folgenden metabolischen Stress (FRÖHLI & BLUM, 1988; CHILLIARD et al., 1998). Die Aktivität des sympathischen Nervensystems in den unterschiedlichen Geweben und Organen ist bei einer Hungerphase gering und bei einem hohen Fütterungslevel erhöht (FRÖHLI & BLUM, 1988). Das sympathische Nervensystem zählt neben der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) und Verhaltensanpassungen zu den primären Vermittlern bei einer Belastungsreaktion (MUDRON et al., 2005). Eine unterschiedliche Reaktionsfähigkeit und Aktivität des ANS der Milchkühe könnte eine Erklärung für die gefundene, erhebliche Variation bei der Fähigkeit, sich an die metabolische Belastung in der Trächtigkeit und in der Frühlaktation anzupassen, sein. Um Kühe mit einer eingeschränkten regulatorischen Kapazität zu selektieren, müssten ausgehend davon Parameter, die mit der Aktivität des ANS und der sympatho-vagalen Balance verbunden sind, frühzeitige Marker für metabolischen Stress sein. Lineare und nichtlineare Parameter der HRV gelten als Marker für die Aktivität des ANS und Stress. Ihr Vorteil ist, dass sie nicht invasiv gemessen werden können (MOHR et al., 2002; HAGEN et al., 2005; GYGAX et al., 2008). Zudem gibt die HRV, im Vergleich zu bisherigen Messmethoden wie HR, KT oder Hormonkonzentration, eine bessere Reflektion der Steuerung des zentralen Nervensystems und der individuellen Kapazität zur Reaktion auf Anforderungen der Umgebung zu reagieren wieder (TASK FORCE ESC/NASPE, 1996).

Die Frequenzbereichsanalyse der HRV hat sich als ein komplexes Werkzeug für die Detektion, wie das ANS die Herzfunktion reguliert, gezeigt (YANG et al., 2000). Die Kühe, in der Gruppe HF+ zeigten während des Futterentzugs einen HF-Anstieg und einem LF/HF-Abfall, was eine erhöhte Aktivität des Parasympathikus des ANS widerspiegelt (CLABOUGH & SWANSON, 1989; DESPRÉS et al., 2002). Im Gegensatz dazu zeigten Kühe der Gruppe HF- eine geringere Parasympathikusaktivität und eine

Richtung Sympathikus des ANS verschobene sympatho-vagale Balance. Eine reduzierte Parasympathikusaktivität zeigt sich in Verbindung mit Stress, verringertem Wohlbefinden und reduzierter Anpassungsfähigkeit (MOHR et al., 2002; HAGEN et al., 2005; GYGAX et al., 2008; STEWART et al., 2008; KÉZÉR et al., 2014). Bei den Parametern der HRV kristallisierte sich der nichtlineare HRV-Parameter LMAX als geeigneter Marker heraus, da kurzfristige Schwankungen, Entwicklungen oder geänderte Regulierungen im ANS dargestellt werden können. LMAX zeigt die Dynamik des Regulationsprozesses auch während eines Fünf-Minuten-Zeitintervalls auf und beschreibt Unterschiede in der zentralen autonomen Regulation. Das konnte mit den Ergebnissen der Regressionsanalyse $\Delta\text{HFP2-P1}$ mit einem hohen Bestimmtheitsmaß für LMAX ($r^2 = 0,76$) bestätigt werden. Ein kleinerer LMAX-Wert bedeutet eine kürzere Linie und damit eine höhere Fluktuation in der Kontrolle eines Systems. Das deutet auf eine eingeschränkte regulatorische Kapazität der Tiere der Gruppe <LMAX im Vergleich zu >LMAX hin. Daher scheint LMAX zur Detektion von Veränderungen der autonomen Regulation denkbar, um so metabolische Störungen oder eingeschränkte Immundefunktion in tragenden und laktierenden Kühen mit Energiedefizit herauszufinden. Das unterschiedliche Regulationsvermögen von Kühen, die nach einem Schwellenwert für LMAX gruppiert wurden, wird durch die Unterschiede bei KT, TMA, ECM, Plasmakortisol und -insulin bekräftigt. Ob LMAX, wie die Erkenntnisse dieser Studie nahelegen, als vorausschauendes Werkzeug zur Identifizierung von Tieren mit einem Risiko bzw. von robusten Tieren mit hoher Anpassungsfähigkeit geeignet ist, muss in weiteren Untersuchungen an einer größeren Stichprobe unter praktischen Bedingungen verifiziert werden.

6 Schlussfolgerung

1. Die TMA der Kühe liegt in der Früh-laktation deutlich unter der Empfehlung der GfE (2001). Die Körpermassemobilisierung, repräsentiert durch die RFD, übersteigt die empfohlenen Grenzwerte zur Vermeidung und rechtzeitigen Erkennung von Stoffwechselstörungen aus der Literatur.
2. Die EBest, die nach den Empfehlungen der GfE, des NRC und der INRA berechnet wurden, weisen im Vergleich zu der EBexp erhebliche Differenzen auf, da der generelle Energiebedarf unterschätzt wird.
3. Milchkühe unterscheiden sich im Aktivitäts- bzw. Reaktivitätszustand des ANS, der mithilfe der HRV-Analyse und den Parametern LF, HF und LF/HF der Frequenzbereichsanalyse detektiert werden kann.
4. Die Parameter der Zeit- und Frequenzbereichsanalyse sind nach der Regressionsanalyse nicht als prädiktiver Marker geeignet, da kurzfristige Schwankungen, Entwicklungen oder geänderte Regulierungen während dieser Zeitspanne verborgen bleiben.
5. Der nichtlineare HRV-Parameter LMAX ist ein geeigneter Marker, um gefährdete Kühe, die eine geringe Anpassungsfähigkeit und Robustheit gegenüber Stoffwechselbelastungen aufweisen, prädiktiv zu erkennen.
6. Die Kühe der Gruppe <LMAX zeigen ein höheres Stresslevel und instabilere Regulationsfähigkeit bzw. geringerer Adaptionfähigkeit bei metabolischer Belastung durch einen Futterentzug unter standardisierten Bedingungen in der Respirationsskammer.

7 Generelle Zusammenfassung

Milchkühe sind Hochleistungssportler, die, um die besten Leistungen zu bringen, optimale Bedingungen benötigen, besonders an der für erhebliche Stoffwechselbelastungen prädestinierten Rasse Deutsche Holstein. Es sind dringend methodische Ansätze zur rechtzeitigen Erkennung von Kühen mit der höchsten Lebenseffizienz hervorzubringen. Dies ist aus ökonomischen, physiologischen und auch ethischen Gründen notwendig.

Zum besseren Verständnis dieser Thematik wurde die Stoffwechselsituation von zwanzig Milchkühen der Rasse Deutsche Holstein (Milchleistung größer 10.000 kg / 305 Tage) in der peripartalen Phase mithilfe der indirekten Kalorimetrie und der Herzfrequenzvariabilität (**HRV**) untersucht und charakterisiert. Diese Arbeit ist in zwei Teilstudien unterteilt. In der ersten Studie wurde die kalorimetrisch bestimmte Energiebilanz (mithilfe der Wärmeproduktion) mit der geschätzten Energiebilanz verglichen, um damit in verschiedenen Stadien der Trächtigkeit und Laktation Aussagen zur aktuellen Genauigkeit der empfohlenen Schätzformel zur Energiebilanz zu treffen. Die geschätzte und die kalorimetrisch bestimmte Energiebilanz unterscheiden sich signifikant. Dies gilt sowohl für den Zeitraum vier Wochen vor als auch zwei Wochen nach der Kalbung, wobei der Unterschied in der Laktation noch stärker ausgeprägt ist als bei trockenstehenden, trächtigen Kühen. Hauptursache der beobachteten Differenzen sind die, im Vergleich zu den nach aktuellen Gleichungen geschätzten, höheren tatsächlichen Erhaltungsbedarfswerte, da die gleichen Formeln für die Futterenergieaufnahme und Milchenergieabgabe verwendet wurden. Um eine für die Praxis repräsentative Datenbasis aufzubauen, die zur Optimierung der Modelle und Gleichungen für die Schätzung des Energiebedarfs nötig ist, sind weitere Versuche mit Kühen mit einer Milchleistung von über 10.000 kg nötig. Darüber hinaus sollten die beobachteten Differenzen zwischen der kalorimetrisch bestimmten und geschätzten Energiebilanz für die Interpretation anderer Versuchsdaten berücksichtigt werden, da in vielen Studien die geschätzte Energiebilanz verwendet und der tatsächliche Energiestatus daher vermutlich überschätzt wird.

In der zweiten Studie wurde einerseits die Methode der HRV-Messung validiert und andererseits mit der Methode gruppenspezifische oder interindividuelle Differenzen beim metabolischen Stresslevel und die regulatorische Anpassungsfähigkeit untersucht.

Es wurden zudem spezifische HRV-Parameter, die diesen unterschiedlichen Status unter kontrollierten Bedingungen anzeigen und als vorausschauende Marker verwendet werden können, identifiziert und untersucht. Es wurde herausgefunden, dass das autonome Nervensystem (ANS) mit dem Sympathikus und Parasympathikus, eine große Rolle bei der Adaption an eine unzureichende Energieversorgung und die Vermittlung bei einer Stressantwort spielt. Die HRV reflektiert die ANS-Aktivität und die sympatho-vagale Balance. Die Parameter der Frequenzbereichsanalyse sind zur Charakterisierung der ANS-Regulation geeignet. Dabei spiegelt der hohe Frequenzbereich (**HF**) die Aktivität des Parasympathikus, der niedrige Frequenzbereich (**LF**) vorwiegend die Aktivität des Sympathikus und das Verhältnis von LF zu HF die sympatho-vagale Balance wider. Daraus resultierend wurden retrospektiv die Tiere in zwei Gruppen eingeteilt, die unterschiedlich auf einen Futterentzug reagierten. Die Gruppe HF + wies eine hohe Vagusaktivität auf und zeigte weniger Stressanzeichen auf den Futterentzug. Bei der Untersuchung zur Ermittlung eines geeigneten Parameters zur frühzeitigen Erkennung einer fehlenden Anpassungsfähigkeit auf metabolische Belastungen kristallisierte sich der nichtlineare HRV-Parameter **LMAX** (längste diagonale Linie im *Recurrence Plot*) heraus. Bei einer Gruppeneinteilung nach LMAX zeigte die Gruppe <LMAX eine eingeschränkte Regulationsfähigkeit mit gesteigerter Stressantwort und verminderter Anpassungsfähigkeit auf metabolische Belastungen. Die Untersuchung mit einer größeren Stichprobe von Kühen unter praktischen Bedingungen ist notwendig, um LMAX als Marker für die frühzeitige Identifizierung gefährdeter Tiere zu validieren und Tiere mit einer hohen Anpassungsfähigkeit zu selektieren.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit die erhebliche Stoffwechselbelastung von Milchkühen insbesondere in der Frühlaktation bestätigt werden. Zudem zeigte sich, dass die auftretende negative Energiebilanz weit stärker ausgeprägt ist, als bisher durch die Schätzgleichungen angenommen. Allerdings können einige Kühe mit dieser Stoffwechselbelastung besser umgehen und weisen unterschiedliche Anpassungsreaktionen auf. Mithilfe der HRV konnten unterschiedliche Reaktionsgruppen detektiert und ein geeigneter Parameter zur Vorhersage verminderter Anpassungsfähigkeit bei metabolischen Belastungen identifiziert werden.

8 General Summary

Dairy cows are high performing athletes who therefore need optimal conditions to perform well. The German Holstein, a breed selected for high milk yield, is highly suitable for such investigations as it is predestined for substantial metabolic stress. There is an urgent need for methodological approaches to timely detect cows with the highest life efficiency. This is necessary for economic, physiological, as well as ethical reasons.

In this context, we investigated the metabolic situation of twenty German Holstein dairy cows (milk yield over 10.000 kg / 305 days) in the peripartal period and characterized it by using indirect calorimetry and heart rate variability (**HRV**). This thesis consists of two sub-studies. In the first study, we compared at various stages of gestation and lactation the energy balance determined by calorimetry to the one estimated by equations in order to provide information on the current accuracy of the recommended estimation equation for energy balance. The energy balance estimated by equations differs significantly from the one determined by calorimetry, both in the period of four weeks before as well as two weeks after calving. The difference was even more pronounced in lactation than in dry, pregnant cows. Since the same equations are used to estimate energy intake by feed and energy release by milk we concluded the higher actual requirements for maintenance compared to those estimated according to current equations as the main reason for the differences we observed. Thus, further investigations on dairy cows with a milk yield exceeding 10.000 kg are necessary in order to establish for practice representative database. Such a database is crucial for optimizing models and equations on estimating energy demand. Additionally, many studies use the energy balance estimated by equations and therefore likely overestimate the actual energy status. The differences between the energy balance determined by calorimetry and by using equations we observed should thus be taken into account when interpreting other experimental data.

The second study, on the one hand, served for validating the method of HRV measurement and on the other hand, examined with the method group-specific or interindividual differences in terms of metabolic stress levels and regulatory adaptability. In addition, we identified and investigated specific HRV parameters that indicate these different states under controlled conditions and therefore are suitable as predictive markers. It was found, that the autonomic nervous system (**ANS**), with sympathetic and parasympa-

thetic nervous system, mainly influences the ability to adapt to an inadequate energy/fuel availability as well as to mediate stress responses. The HRV reflects the ANS activity and the sympatho-vagal balance. The parameters of the frequency domain analysis are suitable for characterizing the ANS regulation. In this case, high frequency (**HF**) reflects the activity of the parasympathetic nervous system, low frequency (**LF**) predominantly the sympathetic activity, and the ratio LF to HF the sympatho-vagal balance. Therefore, we retrospectively divided the animals into two groups upon their response to a feed withdrawal. The group HF + had a high vagus activity and showed less stress signs because of restrictive feeding. When searching for a parameter to early detect a low adaptive capacity to metabolic loads we identified **LMAX** (maxline in the recurrence plot), a nonlinear HRV parameter, as suitable. Grouping the animals according to LMAX showed the animals of <LMAX group to have an increased stress response. Their regulatory capacity was reduced as well as their ability to adapt to metabolic stress. We therefore strongly recommend further investigations under practical conditions to validate LMAX as a marker helping to early identify endangered animals and to select animals who can adapt well.

In summary, this thesis confirmed the increased metabolic stress of dairy cows, especially in early lactation. It further showed that the occurring negative energy balance is much more pronounced than previously assumed when values estimated by using equations were regarded. However, some cows can deal better with metabolic stress situations and adapt to it in a different way. Using HRV, this study revealed that animals are reacting differently and that LMAX is a suitable parameter for predicting a lowered ability to adapt to metabolic loads.

9 Literaturverzeichnis

9.1 Peer-Review Quellen

- AGNEW, R.E.; YAN, T. (2000): The impact of recent research on energy feeding systems for dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 66, 197-215.
- AGNEW, R.E.; YAN, T.; MURPHY, J.J.; FERRIS, C.P.; GORDON, F.J. (2003): Development of maintenance energy requirement and energetic efficiency for lactation from production data of dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 82, 151-162.
- AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEL, F.A.; SHANNON, D.C.; BARGER, C.; COHEN, R.J. (1981): Power Spectrum Analysis of Heart Rate Fluctuation: A Quantitative Probe of Beat-To-Beat Cardiovascular Control. *Science* 213, 220-222.
- ALLEN, M.S.; BRADFORD, B.J.; HARVATINE, K.J. (2005): The cow as a model to study food intake regulation. *Annu. Rev. Nutr.* 25, 523-547.
- ARC (Agriculture Research Council) (1980): The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock: Technical Review. Agricultural Research Council by the Commonwealth Agricultural Bureaux, CAB, Farnham Royal, England.
- BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. (2001): Regulation and nutritional manipulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70, 15–29.
- BELL, A.W. (1995): Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73, 2804–2819.
- BELLMANN, O.; WEGNER, J.; REHFELDT, C.; TEUSCHER, F.; SCHNEIDER, F.; VOIGT, J.; DERNO, M.; SAUERWEIN, H.; WEINGÄRTNER, J.; ENDER, K. (2004): Beef versus dairy cattle: A comparison of metabolically relevant hormones, enzymes, and metabolites. *Livest. Prod. Sci.* 89, 41–54.
- BLOCK, S.S.; BUTLER, W.R.; EHRHARDT, R.A.; BELL, A.W.; VAN AMBURGH, M.E.; BOISCLAIR, Y.R. (2001): Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J. Endocrinol.* 171, 339-348.
- BOISSY, A.; MANTEUFFEL, G.; JENSEN, M.B.; MOE, R.O.; SPRUIJT, B.; KEE-LING, L.J.; WINCKLER, C.; FORKMAN, B.; DIMITROV, I.; LANGBEIN, J.; BAKKEN, M.; VEISSIER, I.; AUBERT, A. (2007): Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiol. Behav.* 92, 375-397.
- BORCHARDT, S. (2010): Untersuchungen zum Einsatz der NEFA und der BHB zur Stoffwechselüberwachung von Transitzühen unter besonderer Berücksichtigung von gepoolten Serumproben. Dissertation, Freie Universität Berlin.

- BÖRNER, S.; DERNO, M.; HACKE, S.; KAUTZSCH, U.; SCHÄFF, C.; THANTHAN, S.; KUWAYAMA, H.; HAMMON, H.M.; RÖNTGEN, M.; WEIKARD, R.; KÜHN, C.; TUCHSCHERER, A.; KUHLA, B. (2013a): Plasma ghrelin is positively associated with body fat, liver fat and milk fat content but not with feed intake of dairy cows after parturition. *J. Endocrinol.* 216, 217-229.
- BÖRNER, S.; ALBRECHT, E.; SCHÄFF, C.; HACKE, S.; KAUTZSCH, U.; DERNO, M.; HAMMON, H.M.; RÖNTGEN, M.; SAUERWEIN, H.; KUHLA, B. (2013b): Reduced AgRP activation in the hypothalamus of cows with high extent of fat mobilization after parturition. *Gen. Comp. Endocrinol.* 193, 167-177.
- BRADÉ, W. (2016): Kritische Anmerkungen zur aktuellen Zuchtzielsetzung bei Deutschen Holsteinrindern: Das Energiedefizit von hochleistenden Milchkühen in der Frühlaktation. *Berichte über Landwirtschaft – Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft. Bundesministerium für Landwirtschaft und Ernährung* 94, 1-18
- BRINKMANN, J.; IVEMEYER, S.; PELZER, A.; WINCKLER, C.; ZAPF, R. (2016): *Tierschutzindikatoren: Leitfaden für die Praxis – Rind. Vorschläge für die Produktionsrichtungen Milchkuh, Aufzuchtkaib, Mastrind*: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTBL), Darmstadt.
- BROSH, A.; AHARONI, Y.; HOLZER, Z. (2002): Energy expenditure estimation from heart rate: validation by long-term energy balance measurement in cows. *Live-st. Prod. Sci.* 77, 287–299.
- BROSH, A. (2007): Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: a review. *J. Anim. Sci.* 85, 1213-1227.
- BROUWER, E. (1965). Report of sub-committee on constants and factors. *Energy Metabolism of Farm Animals*. Academic Press, London, UK, 441–443.
- BRÜGGEMANN, T.; WEISS, D.; ANDRESEN, D. (1995) Spektralanalyse zur Beurteilung der Herzfrequenzvariabilität. *Herzschr. Elektrophysiol.* 5, 19–24.
- BUTLER, W.R.; SMITH, R.D. (1989): Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72, 767-783.
- BUTLER, W.R. (2000): Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 449-457.
- CABIDDU, R.; CERUTTI, S.; VIARDOT, G.; WERNER, S.; BIANCHI, A.M. (2012): Modulation of the sympatho-vagal balance during sleep: frequency domain study of heart rate variability and respiration. *Front. Psychol.* 3, 45.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. (1998): Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.* 38, 131-152.

- CHILLIARD, Y.; BONNET, M.; DELAVAUD, C.; FAULCONNIER, Y.; LEROUX, C.; DJIANE, J.; BOCQUIER, F. (2001): Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21, 271-295.
- CHWALIBOG, A.; JENSEN, K.; THORBEEK, G. (1996): Oxidation of nutrients in bull calves treated with β -adrenergic agonists. *Arch. Anim. Nutr.* 49, 255-261.
- CLABOUGH, D.L.; SWANSON, C.R. (1989): Heart rate spectral analysis of fasting-induced bradycardia of cattle. *Am. J. Physiol.* 257, 1303-1306.
- COFFEY, M.P.; SIMM, G.; OLDHAM, J.D.; HILL, W.G.; BROTHERSTONE, S. (2004): Genotype and diet effects on energy balance in the first three lactations of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 4318-4326.
- COLLARD, B.L.; BOETTCHER, P.J.; DEKKERS, J.C.; PETITCLERC, D.; SCHAEFFER, L.R. (2000): Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83, 2683-2690.
- DAVIDSON, J.A.; BEEDE, D.K. (2009): Exercise training of late-pregnant and non-pregnant dairy cows affects physical fitness and acid-base homeostasis. *J. Dairy Sci.* 92, 548-562.
- DERNO, M.; JENTSCH, W.; SCHWEIGEL, M.; KUHLA, S.; METGES, C.C.; MATTHES, H.D. (2005): Measurements of heat production for estimation of maintenance energy requirements of Hereford steers. *J. Anim. Sci.* 83, 2590-2597.
- DERNO, M.; ELSNER, H.G.; PAETOW, E.A.; SCHOLZE, H.; SCHWEIGEL, M. (2009): Technical note: A new facility for continuous respiration measurements in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 92: 2804-2808.
- DERNO, M.; NÜRNBERG, G.; SCHÖN, P.; SCHWARM, A.; RÖNTGEN, M.; HAMMON, H.M.; METGES, C.C.; BRUCKMAIER, R.M.; KUHLA, B. (2013): Short-term feed intake is regulated by macronutrient oxidation in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 96, 971-980.
- DESPRÉS, G.; VEISSIER, I.; BOISSY, A. (2002): Effect of autonomic blockers on heart period variability in calves: Evaluation of the sympatho-vagal balance. *Physiol. Res.* 51, 347-353.
- DE VRIES, M.J.; VEERKAMP, R.F. (2000): Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83, 62-69.
- DOMECQ, J.J.; SKIDMORE, A.L.; LLOYD, J.W.; KANEENE, J.B. (1997): Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80, 113-120.

- DRACKLEY, J.K. (1999): ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? J. Dairy Sci. 82, 2259-2273.
- DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G.N (2001): Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during periparturient period. J. Dairy Sci. 84, 100-112.
- DRACKLEY, J.K. (2002): Transition cow management and periparturient metabolic disorders. In Kaske, M.; Scholz, H.; Höltershinken, M. (Hrsg.): Recent Developments and Perspectives in Bovine Medicines Keynote Lectures, Hildesheimer Druck- und Verlags GmbH, Hannover, 224-233
- DRACKLEY, J.K.; CARDOSO, F.C. (2014): Prepartum and postpartum nutritional management to optimize fertility in high-yielding dairy cows in confined TMR systems. Animal 8, 5-14
- DULLOO, A.G.; SEYDOUX, J.; JACQUET, J. (2004): Adaptive thermogenesis and uncoupling proteins: a reappraisal of their roles in fat metabolism and energy balance. Physiol. Behav. 83, 587-602.
- ECKERT, R.; RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. (2002): Tierphysiologie. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- ECKMANN, J.P.; KAMPHORST, S.O.; RUELLE, D. (1987): Recurrence Plots of Dynamical Systems. EPL 5, 973–977.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. (1989): A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. J. Dairy Sci. 72, 68-78.
- EHRHART-BORNSTEIN, M.; LAMOUNIER-ZEPTER, V.; SCHRAVEN, A.; LANGENBACH, J.; WILLENBERG, H.S.; BARTHEL, A.; HAUNER, H.; MCCANN, S.M.; SCHERBAUM, W.A.; BORNSTEIN, S.R. (2003): Human adipocytes secrete mineralocorticoidreleasing Factors. PNAS 100, 14211-14216.
- ELLER-BERNDL, D. (2010): Herzratenvariabilität. Verlagshaus der Ärzte GmbH, Wien.
- ESPERER, H.D. (1995): Physiologische Grundlagen und pathologische Aspekte der Herzfrequenzvariabilität beim Menschen. Herzschr. Elektrophys. 5, 1-10.
- ESPERER, H.D. (2006): Nichtlineare HRV-Analyse im Sport: Grundlagen, Anwendungen und Limitationen. In: Hottentrott, K. (Hrsg) Herzfrequenzvariabilität: Methoden und Anwendungen in Sport und Medizin. Schriften der Deutschen Vereinigung für Sportwissenschaften, Bd 162. Feldhaus, Ed. Czwalina, Hamburg, S. 64-97.

- EVEN, P.C.; MOKHTARIAN, A.; PELE, A. (1994): Practical aspects of indirect calorimetry in laboratory animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 18, 435-47.
- FREETLY, H.C., NIENABER J.A., BROWN-BRANDL, T. (2006): Changes in heat production by mature cows after changes in feeding level. *J. Anim. Sci.* 84, 1429-1438.
- FRISCH, J.E.; VERCOE, J.E. (1977): Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred cattle. *J. Anim. Sci.* 25, 343-358.
- FRÖHLI, D.; BLUM J.W. (1988): Effects of fasting on blood plasma levels, metabolism and metabolic effects of epinephrine and norepinephrine in steers. *Eur. J. Endocrinol.* 118, 254-259.
- FÜRLI, M. (2005): Stoffwechselüberwachung bei Rindern. In Kraft, W.; Dürr, U. (Hrsg.): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer-Verlag; Stuttgart und New York, 5, 459 ff.
- GARCÍA, A.M.B.; CARDOSO, F.C.; CAMPOS, R.; THEDY D.X.; GONZÁLEZ, F.H.D. (2011): Metabolic evaluation of dairy cows submitted to three different strategies to decrease the effects of negative energy balance in early postpartum. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 11-17.
- GfE (German Society of Nutrition Physiology). 1997. Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Zum Protein-bedarf von Milchkühen und Aufzuchttrindern. 6, 217-236.
- GfE (German Society of Nutrition Physiology) (2001): Empfehlungen zur Energie-und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder (Recommended energy and nutrient supply for dairy cows and growing cattle). 8 ed., Frankfurt am Main, Germany.
- GfE (German Society of Nutrition Physiology) (2009): New equations for predicting metabolisable energy of compound feeds for cattle. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 18, 143-146.
- GOFF, J.P. (2006): Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *J. Dairy Sci.* 89, 1292-1301.
- GROSS, J.J.; VAN DORLAND, H.A.; BRUCKMAIER R.M.; SCHWARZ, F.J. (2011): Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *J. Dairy Sci.* 94, 1820-1830.

- GRUBER, L.; SUSENBETH, A.; SCHWARZ, F.J.; FISCHER, B.; SPIEKERS, H.; STEINGASS, H.; MEYER, U.; CHASSOT, A.; JILG, T.; OBERMAIER, A. (2008): Bewertung des NEL-Systems und Schätzung des Energiebedarfs von Milchkühen auf der Basis von umfangreichen Fütterungsversuchen in Deutschland, Österreich und der Schweiz. In Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein, Irdning, 47-57.
- GRUMMER, R.R. (1993): Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3882-3896.
- GRUMMER, R.R.; MASHEK, D.G.; HAYIRLI, A. (2004): Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. Food Anim.* 20, 447-470.
- GYGAX, L.; NEUFFER, I.; KAUFMANN, C.; HAUSER, R.; WECHSLER, B. (2008): Restlessness behaviour, heart rate and heart-rate variability of dairy cows milked in two types of automatic milking systems and auto-tandem milking parlours. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 167-179.
- HACKE, S.; PILZ, K. (2013): Fixiurgurt für die veterinärmedizinische Diagnostik bei Großtieren. Europäische Patentanmeldung, EP2633807A1, FBN - Leibniz-Institut für Nutztierbiologie, Dummerstorf, 1-21.
- HAGEN, K.; LANGBEIN, J.; SCHMIED, C.; LEXER, D.; WAIBLINGER, S. (2005): Heart rate variability in dairy cows-influences of breed and milking system. *Physiol. Behav.* 85, 195-204.
- HAINSWORTH, R., 1995. The control and physiological importance of heart rate. In: Malik, M.; Camm, A.J., (eds.) *Heart rate Variability*. Futura Publishing Company, Inc. Armonk, N.Y., 3-19.
- HAMMON, H.M.; STÜRMER, G.; SCHNEIDER, F.; TUCHSCHERER, A.; BLUM, H.; ENGELHARD, T.; GENZEL, A.; STAUFENBIEL, R.; KANITZ, W. (2009): Performance and metabolic and endocrine changes with emphasis on glucose metabolism in high-yielding dairy cows with high and low fat content in liver after calving. *J. Dairy Sci.* 92, 1554-1566.
- HANSEN, L.B.; COLE, J.B.; MARX, G.D.; SEYKORA, A.J. (1999): Productive life and reasons for disposal of Holstein cows selected for large versus small body size. *J. Dairy Sci.* 82, 795-801.
- HANSEN, L. B. (2000): Consequences of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. *J. Dairy Sci.* 83, 1145-1150.
- HARMEYER, J. (2005): Herz. In von Engelhardt, W.; Breves, G. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart, 137-179.

- HEUWIESER, W.; MANSFELD, R. (1992): Beurteilung der Körperkondition bei Milchkühen. *Milchpraxis* 30, 10-14.
- HOFFMANN, P.C. (1993): Optimum body size of holstein replacement heifers. *J. Anim. Sci.* 75, 836–845.
- HOTTENTROTT, K. (2002): Grundlagen zur Herzfrequenzvariabilität und Anwendungsmöglichkeiten im Sport. In: Hottenrott, K. (Hrsg.): *Herzfrequenzvariabilität im Sport - Prävention, Rehabilitation und Training*. Hamburg, Czwalina, 9-26.
- HOTTENTROTT, K.; HOOS, O.; ESPERER, H.D (2006): Herzfrequenzvariabilität und Sport. *Urban & Vogel GmbH, Herz* 31, 544-552.
- HOULE, M.S.; BILLMAN, G.E. (1999): Low-frequency component of the heart rate variability spectrum: a poor marker of sympathetic activity. *J. Physiol.-Heart Circul. Physiol.* 276, 215-223.
- INGVARTSEN, K.; ANDERSEN, J. (2000): Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83, 1573-1597.
- INGVARTSEN, K. (2006): Feeding- and management-related diseases in transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 175-213.
- INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) (2007): *Alimentation des Bovins, Ovins et Caprins. Besoins des Animaux - Valeurs des Aliments. Tables INRA 2007*. Editions Quae, c/o INRA, RD 10, 78026 Versailles Cedex.
- JENTSCH, W.; WITTENBURG, H. (1993): Comparative studies of the parameters of rumen fermentation and the digestibility of feed rations in cattle and sheep. 1. Parameters of rumen fermentation. *Arch. Anim. Nutr.* 43, 345-361.
- JENTSCH, W.; DERNO, M.; WEIHER, O. (2001): Wärmeabgabe der Milchkühe in Abhängigkeit von der Leistung - eine Studie. *Arch. Tierz.* 44, 599-610.
- JOHNSON, D.E.; JOHNSON, K.A.; BALDWIN, R.L. (1990): Changes in Liver and Gastrointestinal Tract Energy Demands in Response to Physiological Workload in Ruminants. *J. Nutr.* 120, 649-655.
- KANITZ, E.; OTTEN, W.; NÜRNBERG, G.; BRÜSSOW, K. (1999): Effects of age and maternal reactivity on the stress response of the pituitary–adrenocortical axis and the sympathetic nervous system in neonatal pigs. *J. Anim. Sci.* 68, 519-526.
- KANITZ, E.; TUCHSCHERER, M.; TUCHSCHERER, A.; STABENOW, B.; MANTEUFFEL, G. (2002): Neuroendocrine and immune responses to acute endotoxemia in suckling and weaned piglets. *Biol. Neonate* 81, 203-209.

- KANTERS, J.K.; HØJGAARD, M.V.H.; AGNER, E.; HOLSTEIN-RATHLOU, N. (1996): Short- and long-term variations in non-linear dynamics of heart rate variability. *Cardiovasc. Res.* 31, 400-409.
- KATAOKA, N.; HIOKI, H.; KANEKO, T.; NAKAMURA, K. (2014): Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metab.* 20, 346-358.
- KEBREAB, E.; FRANCE, J.; AGNEW, R.E.; YAN, T.; DHANOA, M.S.; DIJKSTRA, J.; BEEVER, D.E.; REYNOLDS, C.K. (2003): Alternatives to Linear Analysis of Energy Balance Data from Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 86, 2904-2913.
- KENNEDY, J.; DILLON, P.; DELABY, L.; FAVERDIN, P.; STAKELUM, G.; RATH, M. (2003): Effect of genetic merit and concentrate supplementation on grass intake and milk production with Holstein Friesian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 610-621.
- KÉZÉR, F.L.; KOVÁCS, L.; JURKOVICH, V.; SZENCI, O.; TÖZSÉR, J. (2014): Heart rate variability as non-invasive measure of stress in cattle – field studies on Hungarian dairy herds. *Hungarian Agricultural Research* 4, 33-38.
- KIRCHGEßNER, M.; KREUZER, M.; KAUFMANN, T.E.G.; PAULICKS, B.R. (1987): Physiologische Anpassung von Milchkühen an Energie- oder Proteinfehlernährung. Sonderdruck aus „Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrbuch“, 64. Jahrgang 4, 513-520.
- KIRCHGEßNER, M. (2004). Energiehaushalt. In Kirchgeßner, M. (Hrsg.): Tierernährung. DLG-Verlags-GmbH, Frankfurt am Main, 106-142
- KLAWUHN, D.; STAUFENBIEL, R. (1997): Predictive value of back fat thickness for body fat content in cattle. *Tierärztliche Praxis* 25, 133-138.
- KLEIBER, M. (1967): The Fire of Life. An introduction to animal energetics. Verlag John Wiley & Sons, Inc. New York, London.
- KNIGHT, C.H.; BEEVER, D.E.; SORENSEN, A. (1999): Metabolic loads to be expected from different genotypes under different systems, *Metabolic Stress in Dairy Cows*. BSAS 24, 27-36.
- KOKKONEN, T.; TAPONEN, J.; ANTTILA, T.; SYRJALA-QVIST, L.; DELAVAUD, C.; CHILLIARD, Y.; TUORI, M.; TESFA, A.T. (2005): Effect of body fatness and glucogenic supplement on lipid and protein mobilization and plasma leptin in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 1127-1141.
- KOVÁCS, L.; KÉZÉR, F.L.; JURKOVICH, V.; KULCSÁR-HUSZENICZA, M.; TÖZSÉR, J. (2015): Heart Rate Variability as an Indicator of Chronic Stress Caused by Lameness in Dairy Cows. *PLoS ONE* 10, e0134792.

- KUHLA, S.; KLEIN, M.; RENNE, U.; JENTSCH, W.; RUDOLPH, P.E.; SOUFFRANT, W.B. (2004): Carbon and nitrogen content based estimation of the fat content of animal carcasses in various species. *Arch. Anim. Nutr.* 58, 37-46
- KÜHN, C.; THALLER, G.; WINTER, A.; BININDA-EMONDS, O.R.; KAUPPE, B.; ERHARDT, G.; BENNEWITZ, J.; SCHWERIN, M.; FRIES, R. (2004): Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics* 167, 1873-1881.
- KUWAHARA, M.; YAYOU, K.; ISHII, K.J.; HASHIMOTO, S.; TSUBONE, H.; SUGANO, S. (1994): Power spectral-analysis of heart-rate-variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J. Electrocardiol.* 27, 333-337.
- KUWAHARA, M.; SUZUKI, A.; TSUTSUMI, H.; TANIGAWA, M.; TSUBONE, H.; SUGANO, S. (1999): Power spectral analysis of heart rate variability for assessment of diurnal variation of autonomic nervous activity in miniature swine. *Lab. Anim. Sci.* 49, 202- 208.
- LANGBEIN, J.; NÜRNBERG, G.; MANTEUFFEL, G. (2004): Visual discrimination learning in dwarf goats and associated changes in heart rate and heart rate variability. *Physiol. Behav.* 82, 601-609.
- LEBLANC, S.J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. (2006): Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89, 1267-1279.
- LOPEZ, H.; SATTER, L.D.; WILTBANK, M.C. (2004): Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 81, 209-223.
- MAHNHARDT, S. (2015): Erfassung der affektiven Herzaktivität und des Verhaltens beim Hausschwein (*Sus scrofa domestica*) in einem emotional wirksamen Antizipationsparadigma. Dissertation, Universität Rostock.
- MAKIVIĆ, B.; DJORDJEVIĆ NIKIĆ, M.; WILLIS, M.S. (2013): Heart Rate Variability (HRV) as a Tool for Diagnostic and Monitoring Performance in Sport and Physical Activities. *J. Exerc. Physiol.* 16, 103-131.
- MALIK, M. (2004): Standard measurement of heart rate variability. In: Malik, M.; Camm, A.D. (eds) *Dynamic electrocardiography*. Blackwell, Oxford, 13-21.
- MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; CERCUTTI, S. (1991): Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84, 1482-1492

- MALLIANI, A.; LOMBARDI, F.; PAGANI, M. (1994): Power spectrum analysis of heart-rate-variability - A tool to explore neural regulatory mechanisms. *Heart* 71, 1-2.
- MALLIANI, A., (1995): Association of heart rate variability with physiological regulatory mechanisms. In: Malik, M.; Camm, A.J., (eds.) *Heart rate Variability*. Futura Publishing Company, Inc. Armonk, N.Y., 173-188.
- MARTENS, H. (2012): Die Milchkuh – Wenn die Leistung zur Last wird. 39. Viehwirtschaftliche Tagung. Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein. Tagungsband, 35-42.
- MARTENS, H. (2014): Die Hochleistungskuh: Wenn die Leistung zur Last wird! Tagungsband der 51. Jahrestagung der BAT e. V., 35-42.
- MARWAN, N.; CARMEN ROMANO, M.; THIEL, M.; KURTHS, J. (2007): Recurrence plots for the analysis of complex systems. *Phys. Rep.* 438, 237 – 329.
- MELESSE, A. (2012): In vitro evaluation of utilizable crude protein using ruminal fluid in leaves, whole and seeds-removed pods of *Moringa stenopertala* and *Moringa oleifera* grown in the rift valley of Ethiopia. *Ethiop. J. Agric. Sci.* 22, 62-72.
- MEYER, U. (2005): Fütterung der Milchkühe. In: Brade, W.; Flachowsky, G. (Hrsg.): *Rinderzucht und Milcherzeugung. Empfehlungen für die Praxis* (2. Auflage). FAL Agricultural Research 289, 111-127.
- MILLIGAN, L.P.; SUMMERS, M. (1986): The biological basis of maintenance and its relevance to assessing responses to nutrients. *Proc. Nutr. Soc.* 45, 185-193.
- MOE, P.W.; FLATT, W.P.; TYRRELL, H.F. (1972): The net energy values of feeds for lactation. *J. Dairy Sci.* 55, 945-958.
- MOHR, E.; LANGBEIN, J.; NÜRNBERG, G. (2002): Heart rate variability: a noninvasive approach to measure stress in calves and cows. *Physiol. Behav.* 75, 251-259.
- MONTANO, N.; RUSCONE, T.G.; PORTA, A.; LOMBARDI, F.; PAGANI, M.; MALLIANI, A. (1994): Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. *Circulation* 90, 1826-1831.
- MORMEDE, P.; ANDANSON, S.; AUPERIN, B.; BEERDA, B.; GUEMENE, D.; MALNIKVIST, J.; MANTECA, X.; MANTEUFFEL, G.; PRUNET, P.; VAN REENEN, C.G.; RICHARD, S.; VEISSIER, I. (2007): Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav.* 92, 317-339.

- MUDRON, P.; REHAGE, J.; SALLMANN, H.P.; HÖLTERSHINKEN, M.; SCHOLZ, H. (2005): Stress response in dairy cows related to blood glucose. *Acta Vet. Brno* 74, 37-42.
- NAKUMARA, Y.; YAMAMOTO, Y.; MURAOKA, I. (1993): Autonomic control of heart rate during physical exercise and fractal dimension of heart rate variability. *J. Appl. Physiol.* 74, 875-881.
- NRC (National Research Council) (2001): *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7 ed. National Academy Press, Washington, D.C.
- OLDHAM, J. D.; EMMANS, G. C. (1989): Prediction of responses to required nutrients in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 3212–3229
- OLDHAM, J.D.; EMMANS, G.C. (1990): Animal performance as the criterion for feed evaluation. In: Wiseman, J.; Cole, D.J.A. (Eds.), *Feedstuff Evaluation*, Butterworth, London, 73–90.
- PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELLORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; MALLIANI, A. (1986): Power spectral-analysis of heart-rate and arterial-pressure variabilities as a marker of sympathovagal interaction in man and conscious dog. *Circ. Res.* 59, 178-193.
- PETRY, H. (2005): Energiehaushalt. In von Engelhardt, W.; Breves, G. (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*. Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart, 435-445.
- PORGES, S.W. (1995): Cardiac vagal tone - A physiological index of stress. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 19, 225-233.
- PRIES, M.; MENKE, A.; THOLEN, E.; SÜDEKUM, K.-H. (2009): Neue Gleichungen zur Schätzung der umsetzbaren Energie von Mischfutter für Rinder. https://www.dlg.org/fileadmin/downloads/fachinfos/futtermittel/Schaetzscheichungen_Rind_Mischfutter_2009.pdf, zugegriffen am 21.07.2018
- RAJENDRA, U.; ACHARYA, K.; JOSEPH, K.P.; KANNATHAL, N.; LIM, C.M.; SURI, J.S. (2006): Heart rate variability: a review. *Med. Biol. Eng. Comput.* 44, 1031-1051.
- PARDO, Y.; MERZ, C.N.B.; PAUL-LABRADOR, M.; VELASQUEZ, I.; GOTTDIENER, J.S.; KOP, W.J.; KRANTZ, D.S.; ROZANSKI, A.; KLEIN, J.; PETER, T. (1996): Heart rate variability reproducibility and stability using commercially available equipment in coronary artery disease with daily life myocardial is-chemia. *Am. J. Cardiol.* 78, 866-870.

- REIST, M.; ERDIN, D.; VON EUW, D.; TSCHUEMPERLIN, K.; LEUENBERGER, H.; CHILLIARD, Y.; HAMMON, H.M.; MOREL, C.; PHILIPONA, C.; ZBINDEN, Y.; KUENZI, N.; BLUM, J.W. (2002): Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 3314-3327.
- REIST, M.; ERDIN, D.; VON EUW, D.; TSCHUEMPERLIN, K.; LEUENBERGER, H.; DELAVAUD, C.; CHILLIARD, Y.; HAMMON, H.M.; KUENZI, N.; BLUM, J.W. (2003): Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *J. Dairy Sci.* 86, 1690-1706.
- REYNOLDS, C.K. (1996): Nutritional requirements of the high genetic merit dairy cow: constraints of feeding grasses and legumes. In: *Grass and Forage for Cattle of High Genetic Merit*. Br. Grassl. Soc., Great Malvern, England; 1996.
- SAMMITO, S.; BÖCKELMANN, I. (2015): Analyse der Herzfrequenzvariabilität – Mathematische Basis und praktische Anwendung. *Herz* 40, 76-84.
- SAMUELSSON, B.; UVNÄS-MOBERG, K.; GOREWIT, R.C.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. (1996): Profiles of the hormones somatostatin, gastrin, CCK, prolactin, growth hormone and cortisol. II. In dairy cows that are milked during food deprivation. *Livest. Prod. Sci.* 46, 57-64.
- SANFTLEBEN, P. (2009): Tiergerechte Haltung von Milchrindern. Beiträge zur Tierproduktion. Mitteilungen der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei MV 41, 42-52.
- SAUERWEIN, H.; HEINTGES, U.; HENNIES, M.; SELHORST, T.; DAXENBERGER, A. (2004): Growth hormone induced alterations of leptin serum concentrations in dairy cows as measured by a novel enzyme immunoassay. *Livest. Prod. Sci.* 87, 189-95.
- SCA (Standing Committee on Agriculture and Resource Management) (1990): *Feeding Standards for Australien Livestock. Ruminants*. CSIRO Publications, Australia.
- SCHÄFF, C.; BÖRNER, S.; HACKE, S.; KAUTZSCH, U.; ALBRECHT, D.; HAMMON, H.M.; RÖNTGEN, M.; KUHLA, B. (2012): Increased anaplerosis, TCA cycling and oxidative phosphorylation in the liver of dairy cows with intensive body fat mobilization during early lactation. *J. Proteome Res.* 11, 5503–5514.
- SCHÄFF, C.; BÖRNER, S.; HACKE, S.; KAUTZSCH, U.; SAUERWEIN, H.; SPACHMANN, S.K.; SCHWEIGEL-RÖNTGEN, M.; HAMMON, H.M.; KUHLA, B. (2013): Increased muscle fatty acid oxidation in dairy cows with intensive body fat mobilization during early lactation. *J. Dairy Sci.* 96, 6449–6460.

- SCHIEMANN, R.; JENTSCH, W.; WITTENBURG, H. (1971): Zur Abhängigkeit der Verdaulichkeit der Energie und der Nährstoffe von der Höhe der Futteraufnahme und der Rationszusammensetzung bei Milchkühen. *Arch. Tierernährung* 21, 223-240.
- SCHMIDT, T.; KRAWIELITZKI, K.; VOIGT, J.; GABEL, M. (2005): Methodical aspect of the in situ technique for estimating ruminal nutrient degradation: microbial contamination and lag time. *Survey of Animal Nutrition* 33, 87–100.
- SCHRAMA, J.W.; ROEFS, J.P.; GORSSSEN, J.; HEETKAMP, M.J.; VERSTEGEN, M.W. (1995): Alteration of heat production in young calves in relation to posture. *J. Anim. Sci.* 73, 2254-2262.
- SELYE, H. (1936): A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138, 32.
- SLANGEN, B.F.M.; OUT, I.C.M.; JANSSEN, B.J.A.; PEETERS, L.L.H. (1997): Blood pressure and heart rate variability in early pregnancy in rats. *Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol.* 273, 1794-1799.
- STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; CLARK, J.H. (1990): Relationship between ovarian activity and energy balance during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73, 938-947.
- STAUFENBIEL, R.; SCHRÖDER, U. (2004): Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke. *Veterinärspiegel* 2, 149-155.
- STEWART, M.; STAFFORD, K.J.; DOWLING, S.K.; SCHAEFER, A.L.; WEBSTER, J.R. (2008): Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiol. Behav.* 93, 789-797.
- STÜRMER, G. (2009): Untersuchung von Zusammenhängen zwischen peripartalen Stoffwechselbelastungen und regulatorischen Aspekten des Glucosestoffwechsels sowie Milchleistung und Ovarfunktion bei Hochleistungskühen. Dissertation, Universität Rostock.
- SUSENBETH, A. (2018): Der Energiebedarf von Milchkühen heutiger Rassen. Schriftenreihe der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät der Universität Kiel 125, 88-93.
- TAMMINGA, S.; LUTEIJNB, P.A.; MEIJERC, R.G.M. (1997): Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livest. Prod. Sci.* 52, 31-38.
- TAMMINGA, S. (2006): The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Sci.* 96, 227–239.

- TASK FORCE ESC/NASPE (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology) (1996): Heart Rate Variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur. Heart J.* 17, 354-381.
- TAYLOR, C.S.; MURRAY, J.I. (1991): Effect of feeding level, breed and milking potential on body tissues and organs of mature, non-lactating cows. *Animal Sci.* 53, 27-38.
- THALLER, G.; KÜHN, C.; WINTER, A.; EWALD, G.; BELLMANN, O.; WEGNER, J.; ZÜHLKE, H.; FRIES, R. (2003a): DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim. Genet.* 34, 354-357.
- THALLER, G.; KRÄMER, W.; WINTER, A.; KAUPPE, B.; ERHARDT, G.; FRIES, R. (2003b): Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *J. Anim. Sci.* 81, 1911-1918.
- THUN, R.; EGGENBERGER, E.; ZEROBIN, K.; LUSCHER, T.; VETTER, W. (1981): Twenty-four-hour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm. *Endocrinology* 109, 2208-2212.
- TUCHSCHERER, M.; MANTEUFFEL, G. (2000): The effect of psycho stress on the immune system. Another reason for pursuing animal welfare (Review). *Arch. Tierz.* 43, 547-560.
- TURBILL, C.; RUF, T.; MANG, T.; ARNOLD, W. (2011): Regulation of heart rate and rumen temperature in red deer: effects of season and food intake. *J. Exp. Biol.* 214, 963-970.
- VAN ES, A.J.H. (1975): Feed evaluation for dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 2, 107.
- VAN KNEGSEL, A.T.; VAN DEN BRAND, H.; DIJKSTRA, J.; KEMP, B. (2007): Effects of dietary energy source on energy balance, metabolites and reproduction variables in dairy cows in early lactation. *Theriogenology* 68, 274-S280.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. (1991): Methods for dietary fiber, and 719 nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten) (1993): Methodenbuch Band III: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA Verlag, Darmstadt, Germany.
- VEERKAMP, R.F.; OLDENBROEK, J.K.; VAN DER GAAST, H.J.; VAN DER WERF, J.H. (2000): Genetic correlation between days until start of luteal activity and milk yield, energy balance, and live weights. *J. Dairy Sci.* 83, 577-583.

- VERNON, R. G. (2005): Metabolic regulation. In Dijkstra, J.; Forbes, J.M.; France, J. (eds.): Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CABI Publishing, Wallingford, UK, 443–468.
- VINKERS, C.H.; PENNING, R.; EBBENS, M.M.; HELLHAMMER, J.; VERSTER, J.C.; KALKMAN, C.J.; OLIVIER, B. (2010): Stress-induced hyperthermia in translational stress research. *The Open Pharmacology Journal* 4, 30-35.
- VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRES, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. (2007): Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals -- a review. *Physiol. Behav.* 92, 293-316.
- WADE, G.N.; JONES, J.E. (2004): Neuroendocrinology of nutritional infertility. *Am. J. Physiol.* 287, 1277-1296.
- WATHES, D.C.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; TAYLOR, V.J.; COFFEY, M.P.; BROTHERSTONE, S. (2007): Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the interrelationships between metabolic traits, milk production and body condition score in the periparturient period. *Dom. Anim. Endocrinol.* 33, 203-225.
- WEBBER, C.L. JR.; ZBILUT, J.P. (1994): Dynamical assessment of physiological systems and states using recurrence plot strategies. *J. Appl. Physiol.* 76, 965-973.
- WEBBER, C.L. JR.; ZBILUT, J.P. (2007): Recurrence Quantifications: Features extractions from recurrence plots. *Int. J. Bifurc. Chaos* 17, 3467-3475.
- WEBER, C.; HAMETNER, C.; TUCHSCHERER, A.; LOSAND, B.; KANITZ, E.; OT-TEN, W.; SINGH, S.P.; BRUCKMAIER, R.M.; BECKER, F.; KANITZ, W.; HAMMON, H.M. (2013): Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 1-16.
- WEIßBACH, F.; SCHMIDT, L.; KUHLA, S. (1996): Vereinfachtes Verfahren zur Berechnung der Nettoenergie aus der umsetzbaren Energie. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 5, 117.
- WHITE C.R.; SEYMOUR R. (2005): Allometric scaling of mammalian metabolism. *J. Exp. Biol.* 208, 1611-9.
- WILLETT, L.B.; ERB, R.E. (1972). Short term changes in plasma corticoids in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 34, 103-111.

- WINTER A.; KRÄMER W.; WERNER F.A.O.; KOLLERS S.; KATA S.; DURSTEWITZ G.; BUITKAMP J.; WOMACK J.E.; THALLER G.; FRIES R. (2002): Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 9300-9305.
- WYLIE, A.R.G.; WOODS, S.; CARSON, A.F.; McCOY, M. (2008): Periprandial Changes in Metabolite and Metabolic Hormone Concentrations in High-Genetic-Merit Dairy Heifers and Their Relationship to Energy Balance in Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 91, 577-586.
- YAMAMOTO, Y.; HUGHSON, R.L.; PETERSON, J.C., 1991. Autonomic control of heart-rate during exercise studied by heart-rate-variability spectral-analysis. *J. Appl. Physiol.* 71, 1136-1142.
- YAN, T.; GORDON, F.J.; AGNEW, R.E.; PORTER, M.G.; PATTERSON, D.C. (1997a): The metabolisable energy requirement for maintenance and the efficiency of utilisation of metabolisable energy for lactation by dairy cows offered grass silage-based diets. *Livest. Prod. Sci.* 51, 141-150.
- YAN, T.; GORDON, F.J.; FERRIS, C.P.; AGNEW, R.E.; PORTER, M.G.; WRIGHT, I.A.; PATTERSON, D.C. (1997b): The fasting heat production and effect of lactation on energy utilisation by dairy cows offered forage-based diets. *Livest. Prod. Sci.* 52, 177-186.
- YANG, C.C.H.; CHAO, T.C.; KUO, T.B.J.; YIN, C.S.; CHEN, H.I. (2000): Preeclamptic pregnancy is associated with increased sympathetic and decreased parasympathetic control of HR. *Am. J. Physiol.-Heart Circul. Physiol.* 278, 1269-1273.
- YOUNG, J.B.; LANDSBERG, L. (1977): Suppression of sympathetic nervous system during fasting. *Science* 196, 1473-1475.

9.2 Sonstige Quellen

- ADR, (2017): Rinderproduktion in Deutschland 2016. Ausgabe 2017. ADR Jahresbericht 2017, Bonn.
- BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP (2008a): Kubios HRV, Version 2.0. Universität Kuopio, Finnland.
- BIOSIGNAL ANALYSIS AND MEDICAL IMAGING GROUP (2008b): Kubios HRV, Version 2.0, User's Guide. Universität Kuopio, Finnland.

- DGFZ (Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e. V.) 2013: Die Tierzucht im Spannungsfeld von Leistung und Tiergesundheit – interdisziplinäre Betrachtungen am Beispiel der Rinderzucht. Stellungnahme der DGfZ-Projektgruppe „Ökonomie und Tiergesundheit“. <http://www.raiffeisen.de/wp-content/uploads/downloads/2013/08/Stellungnahme-zur-Nutzungsdauer-Rind-2013-DGfZ3.pdf>, zugegriffen am 04.01.2017.
- DHV (Deutscher Holstein Verband) (2017): DHV Statistik, <http://www.holstein-dhv.de/seiteninhalte/leistung.html>, zugegriffen am 29.05.2017
- KOLB, E. (2005): Kühe bedarfsgerecht mit Energie versorgen. Bauernzeitung 46, 41-43.
- MAHLKOW-NERGE, K. (2011): Erfolgreich füttern: Hochleistung und Energiebilanz - Negativere Energiebilanz bei hochleistenden Kühen. Bauernblatt 27, 42-43.
- MOHR (2010): PERSÖNLICHE MITTEILUNG
- RIND UND WIR (2017): Beste ganzjährig geprüfte Betriebe. Rinderallianz GmbH und Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e. V. Das Rinder-Fach-Journal 2, 10-11
- ROSSOW, N. (2003): Die Energiebilanzsituation der Milchkuh in der Früh lactation. Data Service Paretz GmbH. www.portal-rind.de/portal/data/artikel/49/artikel_49.pdf, zugegriffen am 03.05.2016.
- SAS INSTITUTE INC. (2011): SAS/STAT® 9.3 User's Guide, Second Edition. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- THOMPSON, A. (2010): The Electrocardiogram – Part V. <http://paramedicine101.blogspot.de/2009/09/electrocardiogram-part-v.html>, zugegriffen am 17.11.2016.
- VITAL FORCE (o. J.): Polar Equine RS800CX lovas szet. Bildnachweis Webshop, Hungary, <https://www.vital-force.hu/polar-equine-rs800cx-lovas-szett/>, zugegriffen am 29.05.2017.